

Thesis

MUNICH

1963

3

DER EINFLUSS VON DICARBONSÄUREN AUF DEN FETT-

STOFFWECHSEL DER LEBER

Klaus K o n i e t z k o

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. W. Seitz

Der Einfluß von Dicarbonsäuren auf den Fett-
stoffwechsel der Leber

In-vivo Versuche mit markiertem Acetat

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Klaus K o n i e t z k o

aus Greiling bei Bad Tölz

1963

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München.

Berichterstatter: Prof. Dr. W. Seitz.

Dekan: Prof. Dr. Herrmann

Tag der mündlichen Prüfung: 15. Juli 1963.

E i n l e i t u n g

Die große Bedeutung der Fette und des Fettstoffwechsels für die Klinik liegt darin, daß die Arteriosklerose, die heute in den Morbiditäts- und Mortalitätsstatistiken der Zivilisationsvölker eine führende Rolle spielt, in einem noch nicht endgültig geklärten ursächlichen Zusammenhang mit dem Lipoidstoffwechsel steht. Diese Erkenntnis führte zu einer intensiven Beschäftigung mit dem Stoffwechsel der Fette, die vor allem in den letzten Jahren - dank der modernen Isotopentechnik - bedeutende Forschungsergebnisse zeitigte. So haben wir heute einen recht klaren Einblick in das Stoffwechselgeschehen der Fette.

Fette sind im Tier- und Pflanzenreich weit verbreitet und kommen somit in der Nahrung reichlich vor. Ihre Hauptfunktion im Organismus ist die eines Energiespeichers. Dazu kommt noch eine mechanische: als Isolator gegen Wärmeverluste und als Polster gegen mechanische Insulte. In der Zelldimension haben sie struktur- und membranbildende Funktion.

Nach ihrer Struktur werden die Fette eingeteilt in: Neutralfette, Phospholipoide, Steroide, Cerebroside, Carotinoide und Wachse. Die Neutralfette sind Triglyceride, d.h. Triester des Glycerins mit Fettsäuren. Im Organismus liegen die Neutralfette als Gemisch von verschiedenartigen Triglyceriden, d.h. von Glyceriden mit jeweils verschiedenen Fettsäuren im Glycerinmolekül, und wenig Di- und Monoglyceriden vor. Die Fettsäuren bestehen aus Mischungen von gesättigten und ungesättigten Fettsäuren; der Prozentsatz der ungesättigten, wegen ihrer mangelhaften Synthese im Organismus auch essentiell genannten Fettsäuren beträgt 10-20 %. Die Zusammensetzung der Fettsäuren ist teilweise von der Ernährung abhängig. Mengenmäßig bei weitem überwiegend sind die Fettsäuren mit den Kohlenstoffatomzahlen von C_{16} bis C_{18} .

Die Phospholipoide sind Fettsäureester, deren Alkoholkomponente als wichtigsten Bestandteil eine Phosphatgruppe enthält. Nach der Alkoholkomponente teilt man sie ein in Glycerinphosphatide, Acetalphosphatide und Sphingosinphosphatide. Ferner enthalten die Phosphatide als wichtigen Baustein eine stickstoffhaltige Base

(Cholin, Colamin, Serin). Mengenmäßig übertreffen die Glycerinphosphatide die anderen Phosphatide; sie kommen hauptsächlich in der Leber vor. Die Fettsäuren der Phosphatide zeichnen sich durch einen hohen Gehalt an Doppelbindungen aus, auch unterscheiden sie sich von den Fettsäuren der Neutralfette durch die Anzahl ihrer C-Atome: Während die überwiegende Mehrheit der Fettsäuren der Neutralfette aus 16 bis 18 C-Atomen besteht, kommen bei den Fettsäuren der Phosphatide auch Säuren mit mehr C-Atomen - bis 22 C-Atome - in größerer Menge vor.

Die Steroide oder Isopren-Lipide lassen sich vom Sterangerüst ableiten. Ihr in diesem Zusammenhang am meisten interessierender Vertreter ist das Cholesterin, das in freier Form und als Fettsäure-ester in der Leber vorkommt. Die Bedeutung der Steroide liegt ferner in einer Reihe wichtiger Wirkstoffe: Der Sexualhormone, der Nebennierenrindenhormone, der Provitamine D und der Digitaliswirkstoffe.

Die Cerebroside, Carotinoide und Wachse kommen in der Leber nur in geringem Maße vor und sollen in diesem Zusammenhang nicht näher behandelt werden.

Bei der Resorption der Fette steht der Organismus vor der Aufgabe, eine Hydrophobe Substanz in eine hydrophile Phase zu überführen.

Dafür gibt es im wesentlichen zwei Wege (1):

Zum einen werden die Fette durch die im Magendarmtrakt reichlich vorkommenden Lipasen aufgespalten; die dabei entstehenden wasserlöslichen Substanzen - das Glycerin und die niedrigen sowie teilweise auch die mittelkettigen Fettsäuren (bis zur Myristinsäure) gelangen über das Pfortadersystem zur Leber. - Zum anderen werden die Fette nur bis zur Stufe der Di- und Monoglyceride verseift und bilden dann zusammen mit den gallensauren Salzen und den aus den Fettsäuren entstandenen Seifen ein emulgierendes System, mit Hilfe dessen dann die unlöslichen Fette und Fettsäuren in das Lymphgefäßsystem des Darmes gelangen (2). In den Epithelzellen der Darmwand erfolgt eine teilweise Umesterung der Fettsäuren. Fast die Gesamtmenge des aus dem Chylus in die Blutbahn gelangenden Fettes wird von der Leber aufgenommen (3).

Aus der Tatsache, daß nahezu das gesamte aus dem Darm resorbierte Fett, teils über das Pfortader-System, teils über das Lymphsystem seinen Weg über die Leber nehmen muß, ergibt sich die Zentralstellung der Leber im Fettstoffwechsel. Dementsprechend ist der Reich-

tum der Leber an Enzymen, die am Fettstoffwechsel mittelbar oder unmittelbar beteiligt sind, reich. Infolge dieser gesteigerten Aktivität ist das Leberfett in viel rascherem Umsatz begriffen als das Fettgewebe: Die biologischen Halbwertszeiten betragen bei der Ratte 1-2 Tage für Leberfett, 15-20 Tage für Depotfett. Mit Hilfe radioaktiver Isotope konnte ferner nachgewiesen werden, daß nur Fettsäuren, die bereits die Leber passiert haben, in die Depotfette eingebaut werden (4).

In der Leber vollzieht sich neben Umesterung von Fettsäuren und Verlängerung von kurz- und mittelkettigen Fettsäuren im wesentlichen der Abbau zu Grundbausteinen und die Synthese aus Grundbausteinen.

Der Abbau der Fette geht in folgender Weise vor sich:

Die Fette werden nicht in Form der Ester oxydiert, als welche sie in den Geweben vorliegen und auch in der Nahrung aufgenommen werden, sondern werden vor der Oxydation zu Glycerin und freien Fettsäuren gespalten, wobei diese Hydrolyse durch Lipasen und Esterasen katalysiert wird. - Das Glycerin kann in der Leber über Triosephosphat in den Kohlenhydratstoffwechsel eingehen. - Die Fettsäuren, die chemisch relativ inert sind, werden in ihrer Reaktionsfähigkeit durch Überführung in energiereichere Thioester erhöht. Dies geschieht in Bindung an das Coenzym A. Die Bindungsreaktion erfolgt in zwei Schritten: Zunächst reagiert die Fettsäure mit ATP und einem Enzym unter Abspaltung von Pyrophosphat zu dem Zwischenprodukt Acyl-Adenylat, welches dann durch CoA-SH in Acyl-SCoA und Adenosinmonophosphat zerlegt wird.

Die so gebildeten Acylcoenzyme durchlaufen dann in Gegenwart weiterer spezifischer Enzyme eine Reihe von Reaktionen, die zusammenfassend als β -Oxydation bezeichnet werden, da die Oxydation am β -Atom der Kohlenstoffkette angreift und so schrittweise zur Abspaltung von Essigsäureäquivalenten führt. Zunächst wird die Fettsäure durch eine Dehydrogenase - ein Flavoprotein - dehydriert. Es entsteht die α, β -ungesättigte Fettsäure. In einem zweiten Schritt wird an die Doppelbindung Wasser angelagert unter Bildung einer β -Hydroxydsäure; das entsprechende Enzym ist die Crotonase. Die entstandene sekundäre Alkoholgruppe wird über die β -Hydroxyacyldehydrogenase zur Ketogruppe dehydriert. Der letzte Schritt besteht in einer durch die Thiolgruppe des Coenzym A bewirkten Spaltung der Kohlenstoffkette. Hierbei entstehen je ein Molekül Acetyl-Co A und

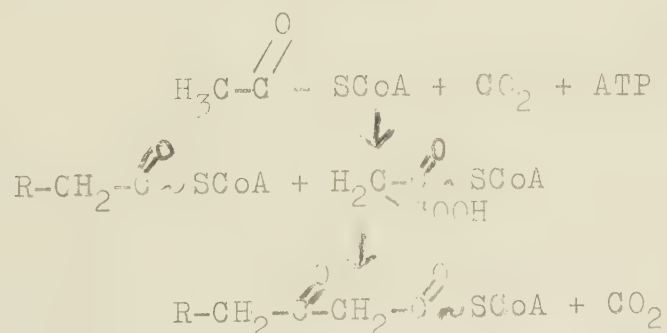


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154022_0148

ein Molekül Acyl-Co A, dessen Fettsäurerest um zwei Kohlenstoffatome kürzer ist als die Kette des Ausgangsmaterials. Die verkürzte Kette geht nun wiederholt durch die gleiche Reihe von Reaktionen, bis die Fettsäurekette zu einem aus weniger als vier Kohlenstoffatomen bestehenden Fragment abgebaut ist. Im Falle geradzahliger Ketten ist das Endprodukt Acetyl-Co A, bei ungeradzahligen Ketten Propionyl-Co A. Letzteres kann vom Organismus nicht weiter abgebaut werden. Durch Anlagerung von CO_2 allerdings kann es in Bernsteinsäure umgewandelt und auf diese Weise dem Organismus wieder nutzbar gemacht werden (5).

Grundsätzlich werden die Fettsäuren von der Carboxylgruppe her angegriffen, wenn diese frei ist. Liegen die Fettsäuren aber in Form von Estern oder Säureamiden vor, so daß die Carboxylgruppe vor dem Angriff der Enzyme geschützt ist, so wird die endständige Methylgruppe angegriffen. Durch Oxydation dieser endständigen Methylgruppe wird eine freie Carboxylgruppe geschaffen, die dann durch β -Oxydation weiter abgebaut werden kann. Diesen Vorgang bezeichnet man als α -Oxydation. Neben den Fettsäuren mit blockierter Carboxylgruppe erleiden noch die Fettsäuren mit 8-10 C-Atomen α -Oxydation, allerdings nur in geringem Umfang. Bei den in der Nahrung hauptsächlich vorkommenden Fettsäuren mit 16-18 C-Atomen tritt keine α -Oxydation auf (6). Von den ungesättigten Fettsäuren, deren Abbauweg noch nicht völlig abgeklärt ist, nimmt man an, daß sie zuerst hydriert und dann wie die gesättigten Fettsäuren abgebaut werden. Die Synthese der Fettsäuren verläuft über weite Strecken als Umkehrung des Abbaus; wesentlich weicht nur der erste Schritt von diesem Schema ab. Und zwar lagert Acetyl-Co A unter Mitwirkung eines biotinhaltigen Enzyms CO_2 an, wobei Malonyl-Co A entsteht. Bei dieser Reaktion, die ATP-abhängig ist, entsteht eine aktive CH_2 -Gruppe, die leicht mit Acyl-Co A reagiert. Dabei entsteht unter gleichzeitiger CO_2 -Abspaltung die β -Ketosäure:



Noch in einem weiteren Detail unterscheidet sich der Aufbauweg der Fettsäuren von dem des Abbaus; die die Hydrierung katalysierenden Enzyme sind bei der Synthese durchwegs Triphosphopyridinnukleotide, während beim Abbau beim ersten Schritt ein Flavoprotein und beim zweiten ein Diphosphonukleotid als Wasserstoffüberträger in Funktion treten.

Die Synthese der Neutralfette vollzieht sich über das aus dem Kohlenhydratstoffwechsel stammende Dihydroxyacetonphosphat, das sich mit zwei Mol aktivierter Fettsäure zu Diglyceridphosphat verbindet. Dieses wird dephosphoryliert und mit einem weiteren Mol Acyl-Co A zur Reaktion gebracht.

Die Synthese der Phosphatide geht über die freien Diglyceride. Das anfänglich an das Glycerin gebundene Phosphat wird also nicht - wie man annehmen könnte - in die Phosphatide eingebaut. Vielmehr reagiert das dephosphorylierte, freie Diglycerid mit Cytidindiphosphat-Cholin bzw. -Colamin, das unter Mitwirkung von ATP aus Cytidintriphosphat und der betreffenden N-haltigen Base entsteht. (7).

Auf die Synthese der Steroide, die vom Acetat ausgehend über verschiedene komplizierte Zwischenstufen verläuft, soll in diesem Zusammenhang nicht näher eingegangen werden.

Unter der Bezeichnung Dicarbonsäuren faßt man nach der chemischen Definition Fettsäuren mit zwei Carboxylgruppen zusammen. Gemeinsam ist dieser Gruppe von Substanzen ihre gute Kristallisierbarkeit, ihre geringe Löslichkeit in Wasser und ihr schwacher Säuregrad, der aber immer noch höher liegt als bei den homologen Fettsäuren. In ihren sonstigen physikalischen und insbesondere biologischen Eigenschaften jedoch unterscheiden sich die einzelnen Glieder doch wesentlich voneinander.

Dennoch kann man vor allem nach ihrer biologischen Funktion folgende Einteilung vornehmen:

1.) Die kurzkettigen Dicarbonsäuren von C_2-C_7 :

Diese Säuren zeichnen sich schon in ihren physikalischen Eigenschaften, ihrer relativ guten Wasserlöslichkeit und ihrer stärkeren Dissoziation aus. Ihre Stellung im Stoffwechsel ist zum größten Teil ziemlich genau bekannt, wie z.B. die der Bernsteinsäure im Zitronensäurecyklus.

Sie sind im Pflanzenreich weit verbreitet und spielen in der menschlichen Ernährung eine gewisse Rolle. Ihre Verwertbarkeit im tierischen Organismus ist sehr gut. Bei Fütterungsversuchen an Hunden konnten Bernhard und andere (8, 9) keine Ausscheidung der betreffenden Säuren im Harn finden. Adipin- (C_6) und Pimelinsäure (C_7) allerdings wurden in vermehrtem Maße ausgeschieden. Sie nehmen hier eine gewisse Mittelstellung ein.

2.) Die mittelkettigen Dicarbonsäuren von C_8-C_{11} :

Bei Verfütterung dieser Säuren fanden die oben angeführten Autoren einen starken Anstieg der Diacidurie, das heißt der Ausscheidung der Dicarbonsäuren im Harn, teilweise bis zu 60%. Mit steigender Atomzahl ging indessen die Diacidurie zurück. Die mittelkettigen Dicarbonsäuren werden also im tierischen Organismus nur schlecht ausgenutzt und zum größten Teil unverändert wieder ausgeschieden.

Sie entstehen im Organismus durch ω -Oxydation einmal aus den homologen Fettsäuren und zum anderen aus Fettsäuren, bei denen die Carboxylgruppe in irgendeiner Weise dem Angriff der Enzyme versperrt ist, z.B. durch Veresterung, Säureamidbildung oder Methylierung in β -Stellung. Die bei der α -Oxydation

der Fettsäuren anfallenden mittelkettigen Dicarbonsäuren fallen mengenmäßig nicht ins Gewicht, wie Bernhard bei Bilanzversuchen mit Deuterium-haltigen Dicarbonsäuren beweisen konnte(6).

3.) Die höherkettigen Dicarbonsäuren ab C_{12} :

Ihr Vorkommen in der Nahrung und ihre Bedeutung im Stoffwechsel sind gering. Sie können nicht wie die mittelkettigen Dicarbonsäuren durch β -Oxydation aus den homologen Fettsäuren gebildet werden. Interessanterweise ist die Verwendbarkeit der höherkettigen Dicarbonsäuren weit besser als die der mittelkettigen, wie aus den o.a. Versuchen ersichtlich.

Allgemein läßt sich sagen, daß die Dicarbonsäuren sich in ihren biologischen Eigenschaften ähnlich verhalten, wie die entsprechenden Monocarbonsäuren. Der Grund für die Reaktionsträgheit der mittelkettigen Säuren, sowohl der einbasigen als auch der zweibasigen, liegt wohl darin, daß bei ihnen eine Verbindung mit Co-Enzym A nicht möglich ist (10). Da sie aber bei vermehrtem Angebot im tierischen Organismus nicht gespeichert werden, sondern zum größten Teil unverändert im Harn erscheinen, ist ihre toxische Wirkung sehr gering.

So wurden Fütterungsversuche an Ratten mit 40 mg Korksäure pro Tag über 33 Wochen ohne nachweisbare Schäden vertragen (11).

P r o b l e m s t e l l u n g

Im Rahmen einer Versuchsreihe über den Fettstoffwechsel in unserem Labor war der Einfluß gesättigter und ungesättigter einbasiger Fettsäuren auf die Fettsynthese in der Leber bei in-vivo und in-vitro-Versuch geprüft worden. In ähnlicher Weise soll nun der Einfluß zweibasiger Fettsäuren - Dicarbonsäuren - auf den Fettstoffwechsel untersucht werden.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit ist es, die Wirkung der zweibasigen gesättigten Fettsäuren Oxalsäure, Bernsteinsäure und Korksäure in Fütterungsversuchen an Tauben mit Hilfe der Fettbestimmung in der Leber und der CO_2 -Ausscheidung der Atmungsluft zu beobachten.

M e t h o d i k

Für unsere Versuche verwendeten wir etwa 6 bis 12 Monate alte Tauben, die 6 Tage vor Versuchsbeginn in Einzelkäfige gesetzt wurden. Eine kohlenhydratreiche Ernährung (Weizenkörner) erwies sich erfahrungsgemäß als notwendig, um eine optimale Aktivität des an der Lipogenese beteiligten Enzymsystems in der Leber zu erreichen. Alle Tiere konnten also bei Versuchsbeginn als sogen. Normaltauben bezeichnet werden.

Daran anschließend führten wir die Kurzfütterung durch, d.h., die Tiere erhielten 3 mal alle 12 Stunden die zu prüfenden Dicarbonsäuren, und zwar in Oblaten. Danach wurde reichlich Wasser in den Kropf instilliert.

Eine Stunde vor Versuchsbeginn wird der so vorgefütterten Taube ein ccm eine 1-C^{14} -Acetatlösung (ca. 300 000 Impulse/min) mit der gleichen Menge Wasser in den Kropf eingebracht. Unmittelbar darauf wird die Taube in den Stoffwechselkäfig gesetzt. Mit Hilfe einer angeschlossenen Wasserstrahlpumpe wird ein kontinuierlicher Luftdurchfluß erreicht. Um die durchströmende Außenluft von Kohlendioxyd zu befreien, ist eine Waschflasche mit Natronlauge vorgeschaltet, so daß die Taube praktisch CO_2 -freie Luft zu atmen bekommt. Auf den Exsiccator folgen hintereinander zwei Absorptionsgefäße, wiederum gefüllt mit Natronlauge, die die von der Taube ausgeatmete Kohlensäure vollständig bindet, was durch Absorptionsfritten gewährleistet wird. Das abgeatmete CO_2 wird nun in bestimmten zeitlichen Abständen aufgefangen und zwar nach 15, 30, 60, 90, 120 und 150 Minuten von Beginn des Versuches an gerechnet. Dabei dienen die ersten 5 Minuten als Anlaufzeit. Zu diesen einzelnen Fraktionen werden je 10 ccm 20%iges Ammoniumchlorid gegeben; danach werden sie zum Sieden gebracht. Zu den kochenden Portionen wird ebenfalls erhitztes 28%iges Bariumchlorid tropfenweise pipettiert, bis kein Bariumkarbonat mehr ausfällt. Das ausgefällte Bariumkarbonat wird in Filtertiegeln (Porengröße G 4) aufgefangen. Diese Tiegel werden anschließend im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz (105°C.) erhitzt. Dann wird das Bariumkarbonatgewicht der einzelnen Fraktionen ermittelt.

Eine kleine Menge Karbonat wird in einem Mörser mit Zaponlack (1 % in absolutem Alkohol) verrieben. Von dieser Aufschwemmung wird eine möglichst dünne Schicht auf Metallplättchen ($\varnothing$ 2,81 cm) von bekanntem Gewicht gleichmäßig gebracht. Von jeder der in den einzelnen Zeitabschnitten ausgeschiedenen Portionen werden zur Kontrolle zwei Plättchen gegossen. Die Plättchen werden unter Rotlicht getrocknet und gewogen, so daß die aufgetragene Menge Bariumkarbonat resultiert. (Das Gewicht des Zaponlacks kann vernachlässigt werden). Um die Selbstabsorption so niedrig wie möglich zu halten, wurde bei der Belegung ein Wert von 5 mg nicht überschritten.

Es folgt nun die Bestimmung der Aktivität mit dem Geigerzähler (Geigerzählgerät FH 49 Frieseke und Hoepfner Erlangen-Bruck und das Glimmer-Fenster-Zählrohr dünner Belegung à 1,0 mg/cm²). Anhand der errechneten Belegung der Plättchen läßt sich, unter Berücksichtigung der Selbstabsorption mittels der in "Isotopic Carbon" (12) angeführten Kurve, die 100%ige Aktivität des $\text{BaC}^{14}\text{O}_3$ auf den einzelnen Plättchen feststellen.

Nach Ablauf der 150 Minuten wird der Versuch abgebrochen, das Tier sofort mit Scherenschlag dekapitiert und die Leber entnommen. Pathologische Lebern werden nach dem makroskopischen Befund ausgeschlossen. Die Leber wird in Eiswasser gewaschen, von Gallenblase und Bindegewebe frei-präpariert und auf dem Filtrierpapier getrocknet. Die getrocknete Leber wird gewogen und mit gleichviel Aqua destillata im elektrischen Homogenisator (Fa.E. Bühler-Büdingen) 2 Minuten lang bei 12 000 Touren homogenisiert. 10 Gramm des Homogenats, die also 5 Gramm Leber enthalten, werden in einem Rundkolben von 1 Liter eingewogen und langsam unter Schwenken 500 ccm Bloor'sche Lösung (1 Teil Äther und 3 Teile 96%iger Alkohol) zugegeben.

Die Extraktion erfolgt in zwei Abschnitten. Das mit der Bloor'schen Lösung versetzte Leberhomogenat wird bei 70° C im Wasserbad 1 Stunde lang am Rückflußkühler gekocht. Dadurch werden die Fette bereits größtenteils extrahiert. Nachdem die Bloor'sche Lösung durch ein Filter abdekantiert wurde, wird der Rückstand erneut mit 200 ccm Chloroform und etwas Methanol

eine halbe Stunde lang bei 70° C gekocht, um die vollständige Extraktion der Fette zu gewährleisten. Diese Lösung wird durch das schon vorher benützte Filter gegossen und der Rückstand dann nochmals mit Chloroform nachgewaschen. Das so erhaltene Filtrat, das die Gesamtfette der Leber enthält, wird im Wasserbad bei 50° C durch Vacuumdestillation eingedampft, woraufhin, um letzte Wasserreste zu beseitigen, noch 20 ccm 96%iger Alkohol dazugegeben und ebenfalls zur Trockene destilliert wird. Die im Glaskolben verbliebene Gesamtfette werden mit Petroläther gelöst und durch ein Filter auf 25 ml aufgefüllt. 4 ml dieser Lösung werden in ein Wägeschälchen von bekanntem Gewicht einpipetiert, im Trockenschrank bei 105° C eingedampft, gewogen und aus der Differenz das Gewicht der Gesamtfette pro 5 g Leber errechnet.

Bei der Messung der Aktivität gingen wir so vor, daß wir jeweils 1 ml der Gesamtfettlösung auf ein Aluminiumplättchen (Ø 30 mm, Randhöhe 3 mm) belegt mit Lenspaper ("Josta-Klar" mit Silikonöl der Firma Josta GmbH München) aufgetragen, so daß sich nach Verdunsten des Petroläthers eine gleichmäßige Fettschicht bildet. Die Messung der Aktivität erfolgt im Methandurchflußzähler (Methandurchflußzähler FH 5 2 - Zählrohr Friesekè und Hoepfner Erlangen - Bruck; Messung bei 3,8 KV, Diskriminatorstellung 10, Blasenzahl 120/min.) nach der Methode der "direkten Messung" nach Enteman u.a. (13). Zur Standardmessung diente ein Uranstrahler von 9 000 Impulsen pro Minute. Auf diesen Wert der Standardfolie erfolgte die Umrechnung der Ergebnisse.

16 ml der verbliebenen Menge werden zur Auftrennung in eine acetonlösliche (Neutralfette=N und acetonunlösliche (Phosphatide=P) Fraktion weiterverarbeitet: eingedampft, mit Aceton aufgefüllt, mit einem Glasstab verrieben und über 24 Stunden im Kühlschrank zur quantitativen Fällung der Aceton unlöslichen Anteile aufbewahrt. Das überstehende Aceton (mit den darin gelösten Fetten) wird abpipetiert, in ein Becherglas filtriert und bis zur Trockene eingedampft. Der Rückstand sowie die in

Aceton unlöslichen Fette werden mit Petroläther gelöst und jeweils auf 10 ml aufgefüllt.

Von diesen beiden Lösungen, in denen also jeweils Neutralfette und Phosphatide enthalten sind, werden, wie oben bei den Gesamtfetten die Radioaktivität und das Gewicht bestimmt, wobei wieder auf ein Lebergewicht von 5 g umgerechnet wurde.

E r g e b n i s s e

Die Auswertung der Versuchsergebnisse gliedert sich entsprechend der in der Methodik beschriebenen Versuchsanordnung in Bestimmung der Leberfette und der CO₂-Ausscheidung. In beiden Fällen wurden sowohl die Aktivität - in Impulsen/min. - als auch das Gewicht gemessen. Dazu kam noch die Berechnung der sog. spezifischen Aktivität, d.h. der Aktivität bezogen auf die Gewichtseinheit.

A. F e t t e

I. Gesamtfette:

Die Ergebnisse sind, mit der Versuchsnummer versehen, nach den verschiedenen Fütterungskonzentrationen aufgeführt, jeweils darunter der Mittelwert. Zuerst kommen die Ergebnisse der Aktivitätsbestimmung, dann die der Gewichtsbestimmung und schließlich die Errechnung der spezifischen Aktivität. Jeweils dahinter steht die prozentuelle Förderung oder Hemmung (% $\pm$), die sich aus dem Vergleich mit den im sog. Leerversuch durchgeführten Kontrollversuchen, deren Mittelwert gleich Null gesetzt wurde, ergibt. Der Vollständigkeit halber ist zuletzt das Lebergewicht, unmittelbar nach Schlachtung der Tiere bestimmt, angeführt.

II. Neutralfette und Phospholipoide

Bei der Fettauftrennung wurde in ähnlicher Weise verfahren. Es unterblieb hier allerdings die Berechnung der spezifischen Aktivität. Ergänzend wurde das Verhältnis der beiden Fraktionen sowohl gewichtsmäßig als auch aktivitätsmäßig bestimmt. Alle Werte sind, wie im Abschnitt Methodik bereits ausgeführt, auf 5 g Leber bezogen.

B. CO₂-Ausscheidung

I. Aktivität:

Die Ergebnisse sind nach dem zeitlichen Ablauf der CO₂-Ausscheidung und nach Fütterungsmenge angeführt. Der unter dem Mittelwert angegebene Gesamtwert berechnet sich aus der Summe der Werte, die bei den einzelnen Zeitabschnitten gemessen wurden.

II. Spezifische Aktivität

Analog der Aktivität sind die Resultate der spezifischen Aktivität, die sich als Quotient der Aktivität und des Gewichts der CO_2 -Ausscheidung des jeweiligen Zeitabschnittes ergibt, nach steigenden Fütterungsmengen aufgeführt.

III. Gewicht

In dieser Rubrik wird die Gesamtmenge des - als BaCO_3 gefällten - CO_2 , das während der gesamten Versuchsdauer von 150 Minuten abgeatmet wurde, angegeben.

Der L e e r v e r s u c h wurde unter den gleichen Bedingungen wie die Fütterungsversuche durchgeführt; es unterblieb dabei nur die Fütterung mit Dicarbonsäuren.

Bei den anderen Untersuchungen wurde vorher ein einheitliches Fütterungsschema festgelegt mit jeweils 3x60, 3x180, 3x250 und 3x400 mg Substanz in jeweils 12-stündigen Abständen.

Bei der O x a l s ä u r e mußte allerdings von diesem Schema abgegangen werden, da schon bei den niedrigsten Konzentrationen Reizerscheinungen vonseiten des Gastrointestinaltraktes auftraten. Bei den Versuchen mit B e r n s t e i n s ä u r e und K o r k s ä u r e dagegen wurden selbst die höchsten Fütterungsmengen ohne makroskopisch sichtbare Schädigungen vertragen.

L e e r v e r s u c h

B. CO₂- Ausscheidung

I. Aktivität (Impulse x 10⁴/min.)

Vers. Nr.	15'	30'	60'	90'	120'	150'
9	0,88	1,54	6,66	5,67	5,20	4,12
39	2,59	2,24	10,10	7,83	3,60	1,10
49	2,56	3,20	7,00	10,40	8,80	12,45
56	2,39	5,00	6,94	5,60	2,49	2,65
61	3,70	3,75	9,70	7,45	3,84	3,34
62	2,40	4,73	10,16	8,07	4,07	2,19
Mittel- wert	<u>2,42</u>	<u>3,41</u>	<u>8,40</u>	<u>6,98</u>	<u>4,68</u>	<u>4,30</u>
Gesamt- wert	<u>2,42</u>	<u>5,83</u>	<u>14,23</u>	<u>21,21</u>	<u>25,89</u>	<u>30,19</u>

II. Spezifische Aktivität (Impulse/min.)

Vers. Nr.	15'	30'	60'	90'	120'	150'
9	0,73	1,32	2,84	2,41	2,26	2,18
39	1,45	2,10	3,03	2,24	1,15	0,39
49	2,00	2,74	3,70	5,41	4,66	4,42
56	1,53	3,05	2,61	1,85	1,14	0,96
61	3,02	4,20	5,38	3,02	2,25	1,71
62	1,83	3,98	4,84	3,93	2,08	1,04
Mittel- wert	<u>1,77</u>	<u>2,90</u>	<u>3,73</u>	<u>3,14</u>	<u>2,26</u>	<u>1,78</u>

III. Gewicht (g)

Vers. Nr.		Vers. Nr.		Vers. Nr.	
9	11,27	39	12,66	49	10,89
56	13,83	61	10,03	62	10,72

Le e r v e r s u c h

A. Leberfette

A = Radioaktivität in Imp. $\times 10^4$, G = Gewicht in mg, spez. A. = spezifische Aktivität

Vers. Nr.	Gesamtfette		Neutralfette (N)		Phospholipide (P)		N : P		Lebergewicht in Gramm
	A	G	spez.A.	A	G	A	A	G	
9	8,40	-	-	4,57	-	3,59	1:0,79	-	14,9 g
39	7,75	202,8	382	2,70	61,1	3,60	1:1,33	1:1,80	8,9 g
49	7,93	183,8	432	3,82	61,5	3,54	1:0,93	1:1,98	7,2 g
56	7,30	240	304	4,33	103	2,96	1:0,68	1:1,33	19,3 g
61	10,60	245	433	3,96	75,5	4,05	1:1,02	1:2,24	7,5 g
62	8,13	258	316	3,84	73	3,50	1:0,91	1:1,91	8,6 g
Mittelwert	8,35	223	373	3,88	74,8	3,55	1:0,92	1:1,87	

Oxalsäureverfütterung

Einfluß auf die Leberfette

I. Gesamtfette

A = Radioaktivität in Imp. $\times 10^4/\text{min.}$, G = Gewicht in mg, spez.
A = spezifische Aktivität, %⁺ = prozentuelle Abweichung vom Leerwert
im Sinne einer Förderung-(+) oder Hemmung (-)

Vers. Nr.	Menge Oxals. (mg)	A	% ⁺	G	% ⁺	spez.A.	% ⁺	Leber- gewicht
100	3x30	11,60	+ 39	330	+ 48	352	- 5,5	9,6 g
101	3x30	8,50	+ 2	339	+ 52	251	- 33	10,7 g
102	3x30	9,75	+ 17	290	+ 30	336	- 10	13,8 g
Mittel- wert		9,95	<u>+ 19</u>	319	<u>+ 43</u>	312	<u>- 16</u>	
103	3x45	3,47	- 58	241	+ 8	144	- 61	8,2 g
104	3x45	2,66	- 68	237	+ 6	112	- 70	7,8 g
105	3x45	3,60	- 57	287	+ 28	126	- 66	9,5 g
Mittel- wert		3,31	<u>- 60</u>	255	<u>+ 14</u>	130	<u>- 65</u>	
96	3x60	1,97	- 76	230	+ 3	86	- 77	8,9 g
97	3x60	3,06	- 63	222	- 0,5	138	- 63	10,7 g
98	3x60	1,36	- 84	220	- 1,5	62	- 83	11,3 g
Mittel- wert		2,13	<u>- 75</u>	224	<u>+ 0,5</u>	95	<u>- 76</u>	

Oxalsäureverfütterung

Einfluß auf die Leberfette

II. Neutralfette und Phospholipide

A = Aktivität in Imp. $\times 10^4/\text{min.}$, G = Gewicht in mg, $\% \pm$ = prozentuelle Abweichung vom Leerwert im Sinne einer Förderung (+) oder Hemmung (-).

Vers. Nr.	Menge Oxals. (mg)	A	Neutralfette (=N) $\% \pm$	G	A	Phospholipide (=P) $\% \pm$	G	N A	:	P G
100	3x30	6,40	+ 65,3	77,8	+ 4,5	5,70	175	1:0,89		1:2,25
101	3x30	3,82	- 1,5	78	+ 5	4,62	186	1:1,20		1:2,38
102	3x30	5,85	+ 51	76	+ 2	3,83	166	1:0,65		1:2,19
Mittelwert		5,36	+ 38	77,2	+ 3,5	4,72	176	1:0,88		1:2,23
103	3x45	1,22	- 68,6	75	+ 1,5	1,98	179	1:1,62		1:2,38
104	3x45	1,19	- 70	71,7	- 4,5	2,18	172	1:1,83		1:2,40
105	3x45	1,25	- 67,8	68	- 9,5	2,70	181	1:2,16		1:2,66
Mittelwert		1,22	- 68,6	71,6	- 4,5	2,29	177	1:1,88		1:2,47
96	3x60	0,61	- 84,2	76,4	+ 2	1,37	169	1:2,24		1:2,21
97	3x60	1,13	- 71	79,4	+ 6	2,18	163	1:1,93		1:2,05
98	3x60	0,56	- 85,6	79,8	- 7	0,89	156	1:1,59		1:1,95
Mittelwert		0,77	- 80,1	78,5	+ 4,5	1,48	162	1:1,92		1:2,06

O x a l s ä u r e v e r f ü t t e r u n g

Einfluß auf die CO₂-Ausscheidung

I. Aktivität (Impulse/min.)

Vers. Nr.	Menge Oxals. (mg)	15'	30'	60'	90'	120'	150'
100	3x30	1,68	4,68	9,15	7,84	7,01	3,80
101	3x30	1,82	5,02	13,80	7,50	9,60	8,11
102	3x30	2,04	1,98	11,10	7,05	9,60	9,08
Mittelwert		<u>1,83</u>	<u>3,89</u>	<u>11,35</u>	<u>7,46</u>	<u>8,73</u>	<u>7,03</u>
Gesamtwert		<u>1,85</u>	<u>5,74</u>	<u>17,09</u>	<u>24,55</u>	<u>33,28</u>	<u>40,31</u>
103	3x45	2,27	7,12	13,35	6,52	6,18	5,00
104	3x45	2,57	7,30	8,25	5,66	6,64	6,68
105	3x45	1,93	1,96	3,93	3,18	4,12	4,17
Mittelwert		<u>2,25</u>	<u>5,46</u>	<u>8,48</u>	<u>5,12</u>	<u>5,64</u>	<u>5,82</u>
Gesamtwert		<u>2,25</u>	<u>7,71</u>	<u>16,19</u>	<u>21,31</u>	<u>26,95</u>	<u>32,23</u>
96	3x60	1,24	6,51	7,54	7,37	6,50	6,04
97	3x60	1,86	5,00	8,91	7,12	8,42	5,86
98	3x60	1,83	5,44	3,18	2,56	2,65	1,52
Mittelwert		<u>1,66</u>	<u>5,67</u>	<u>6,54</u>	<u>5,70</u>	<u>5,85</u>	<u>4,48</u>
Gesamtwert		<u>1,66</u>	<u>7,33</u>	<u>13,87</u>	<u>19,57</u>	<u>25,52</u>	<u>30,00</u>

II. Spezifische Aktivität (Impulse/min.)

Vers. Nr.	Menge (mg)	15'	30'	60'	90'	120'	150'
100	3x30	1,96	4,26	5,20	2,75	2,98	2,42
101	3x30	1,15	3,85	7,90	2,94	5,35	3,96
102	3x30	0,88	2,47	2,50	7,20	3,53	4,00
Mittel- wert		<u>1,33</u>	<u>3,53</u>	<u>5,20</u>	<u>4,31</u>	<u>3,95</u>	<u>3,46</u>
103	3x45	1,48	4,08	3,72	3,03	2,53	1,86
104	3x45	2,75	3,50	3,68	2,75	2,20	2,12
105	3x45	1,90	2,18	2,81	2,34	2,15	1,73
Mittel- wert		<u>2,04</u>	<u>3,25</u>	<u>3,07</u>	<u>2,71</u>	<u>2,29</u>	<u>1,90</u>
96	3x60	1,21	3,98	4,35	2,67	2,59	2,47
97	3x60	1,84	2,12	2,91	2,64	3,80	2,38
98	3x60	1,30	3,10	2,00	1,48	1,34	0,97
Mittel- wert		<u>1,45</u>	<u>3,07</u>	<u>3,08</u>	<u>2,26</u>	<u>2,57</u>	<u>1,94</u>

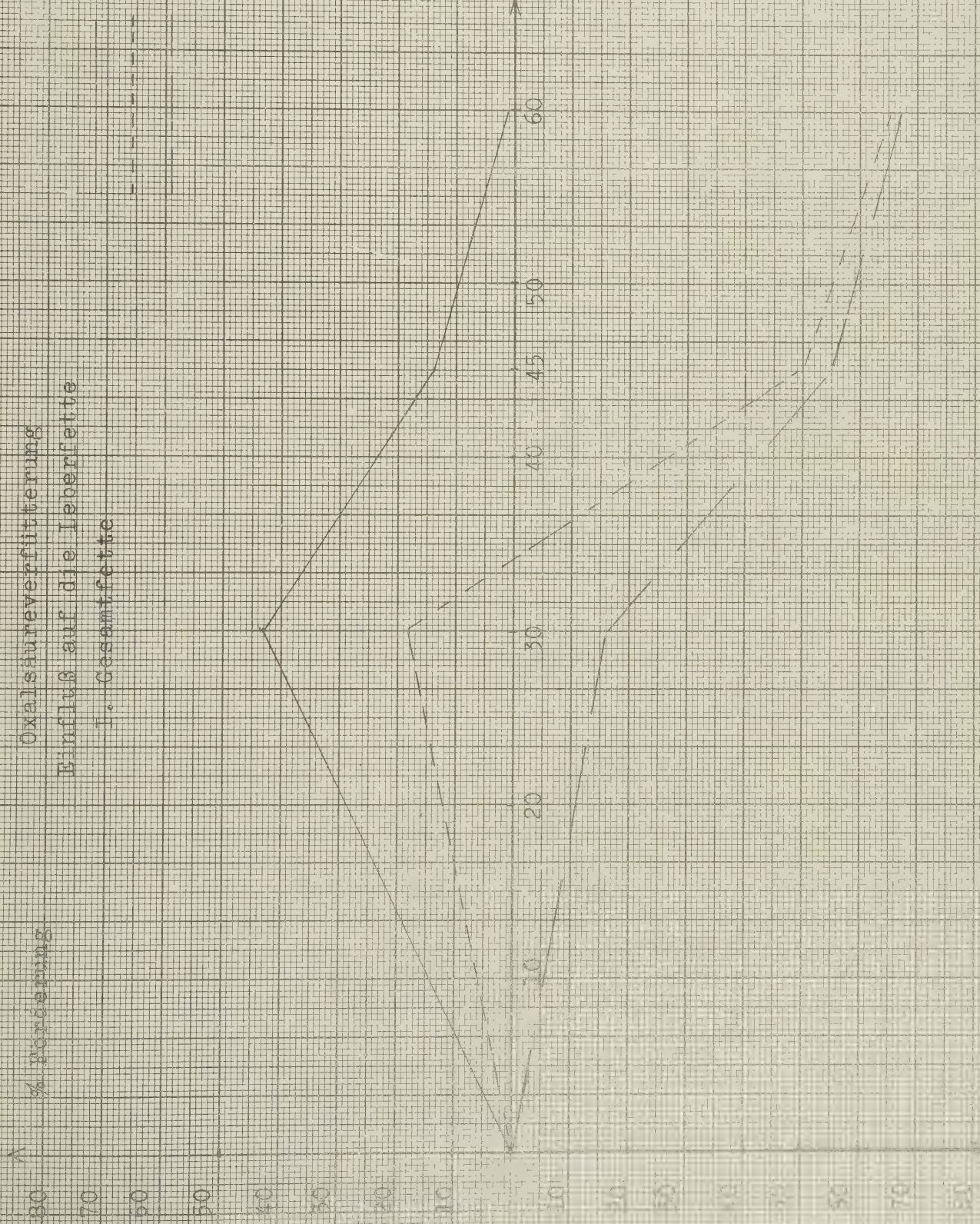
III. Gewicht (g)

Vers. Nr.	Menge	Gew.	Mittel- wert	Vers. Nr.	Menge	Gew.	Mittel- wert
100	3x30	10,53		103	3x45	14,17	
101	3x30	11,07	<u>11,72</u>	104	3x45	13,50	<u>12,57</u>
102	3x30	13,56		105	3x45	10,03	
96	3x60	12,11					
97	3x60	13,02	<u>11,73</u>				
98	3x60	10,07					

Oxalsäureverfütterung
 Einfluß auf die Leberfette
 i. Gesamtfette

Gewicht
 Aktivität
 Spez. Aktivität

Menge der Säure (mg)



A % Förderung

Oxalsäureverfütterung

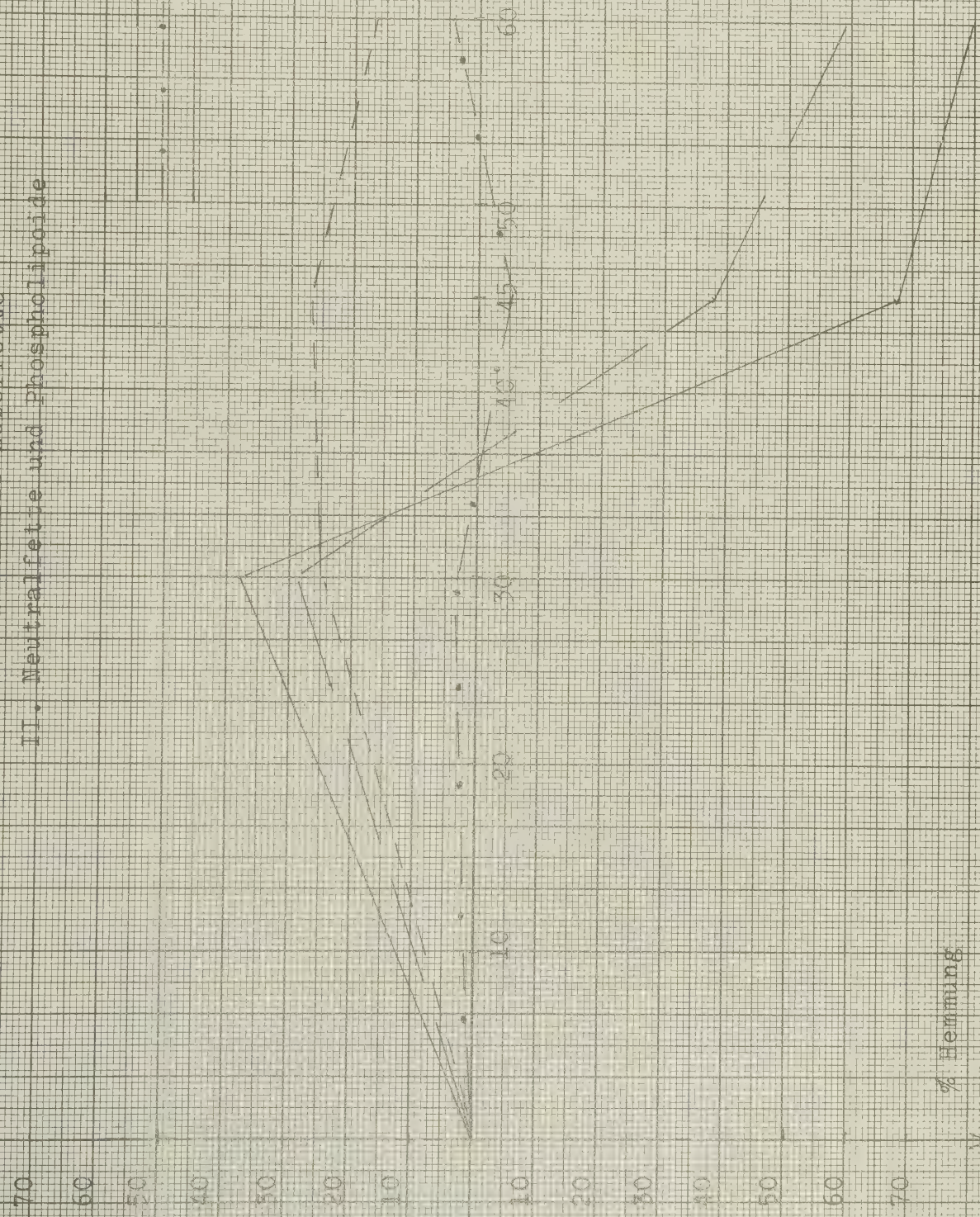
Einfluß auf die Leberfette

II. Neutralfette und Phospholipide

Gew. Akt. Phospholipide
Gew. Akt. Neutralfette

Menge der Säure (mg)

% Hemmung



Aktivität

Oxalsäureverfütterung.

Imp./min $\times 10^5$)

Einfluß auf die CO_2 -Ausscheidung

1. Gesamtausscheidung

5

4

3

2

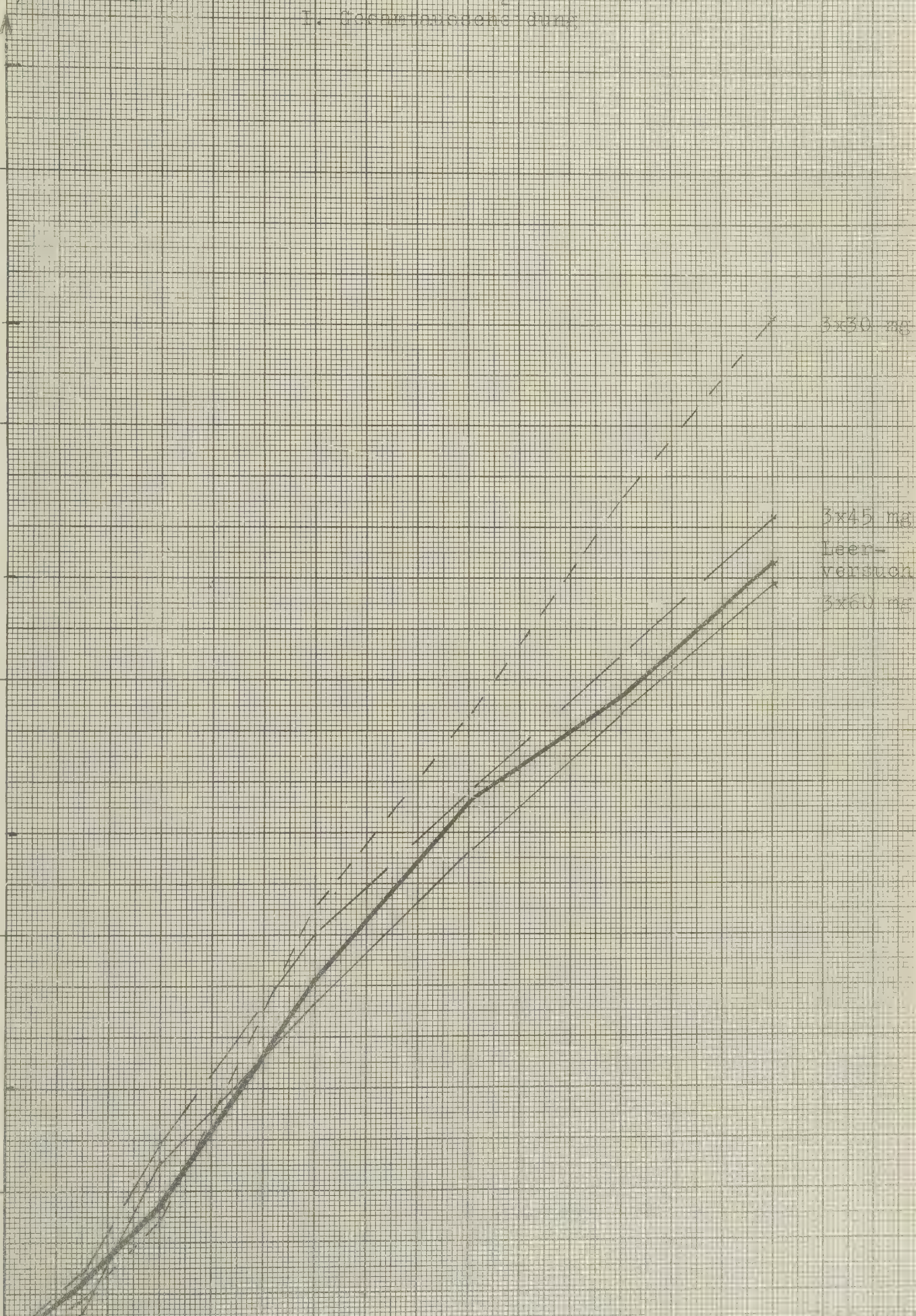
1

3x30 mg

3x45 mg

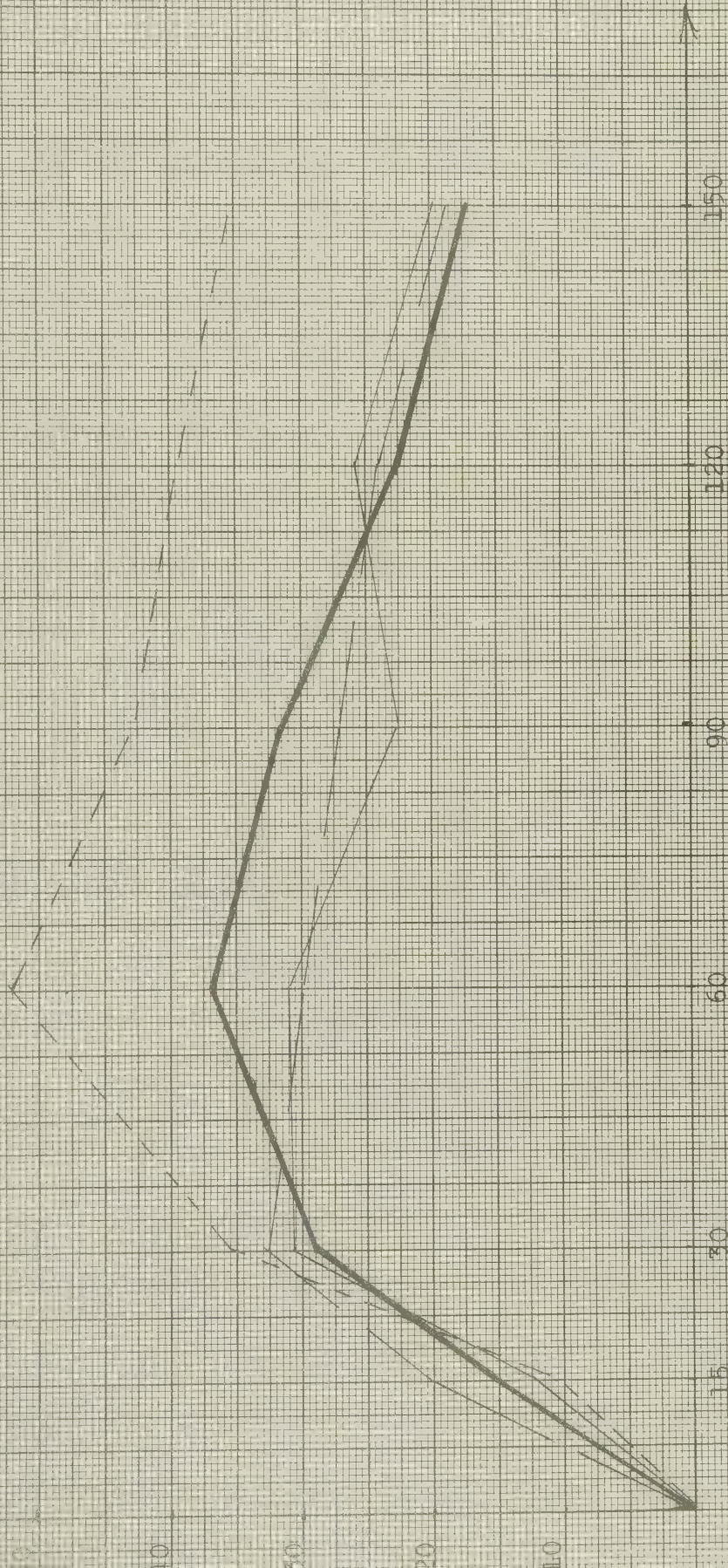
Leer-
versuch

3x60 mg



A Aktivität
(Impulse/min. $\times 10^3$) Oxalsäureverfütterung
Einfluß auf die CO_2 - Ausscheidung
II. Spezifische Aktivität

3x45 mg
3x30 mg
3x60 mg
Leerversuch



Einfluß auf die CO_2 - Ausscheidung III. Gewicht

Gewicht
(g)

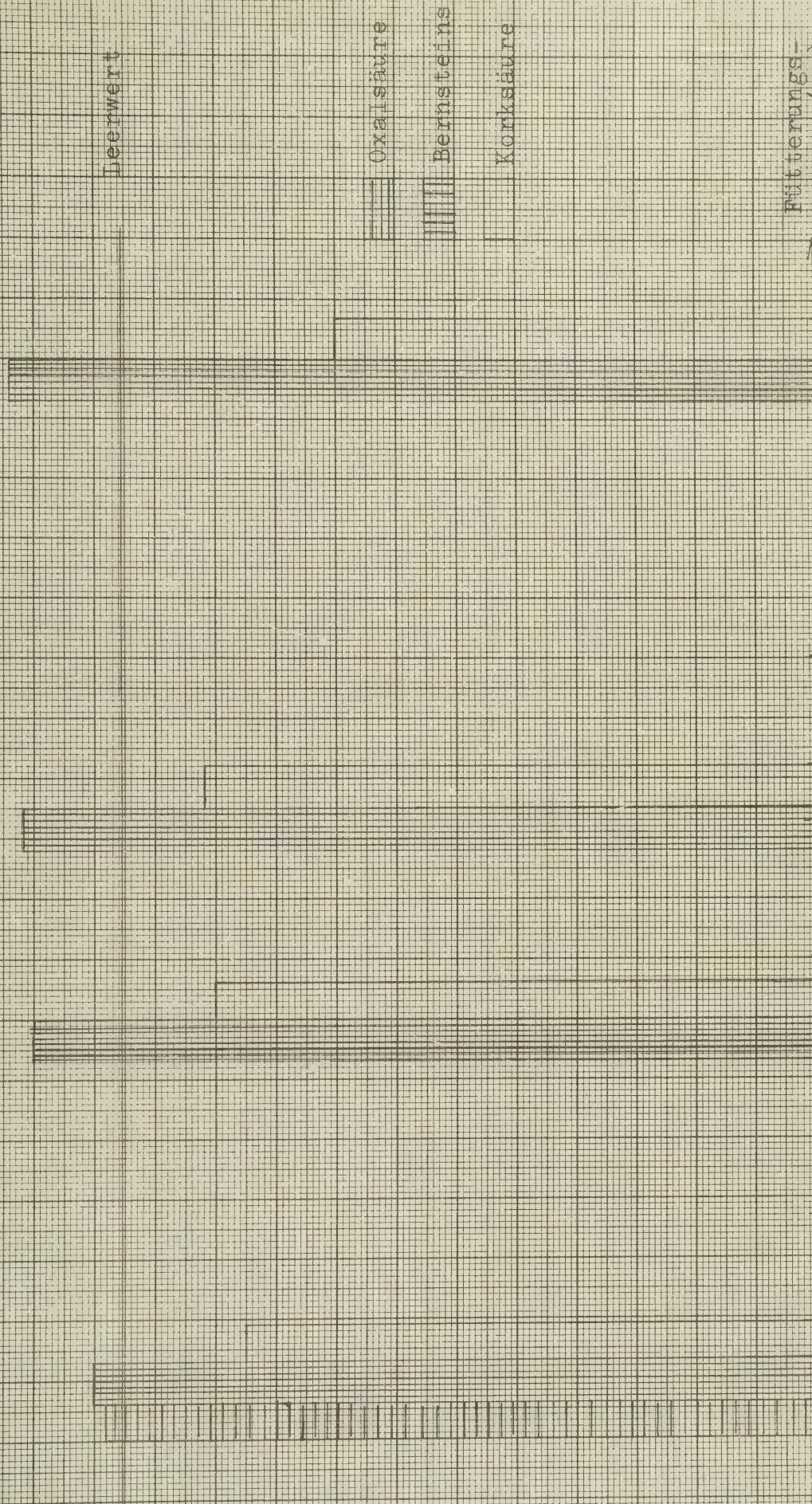
13
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1

60 100 180 200 250 300 400

→ Fütterungs-
menge (mg)

Leerwert

Oxalsäure
Bernsteinsäure
Korksäure



Bernsteinsäureverfütterung

Einfluß auf die Leberfette

I. Gesamtfette

A = Aktivität in Imp. x 10⁴/ min., G = Gewicht in mg, %[±] = prozentuelle Abweichung vom Leerwert im Sinne einer Förderung (+) od. Hemmung (-).

Vers. Nr.	Menge Bernst.S. (mg)	A	% _±	G	% _±	spez.A.	% _±	Lebergewicht
64	3x60	7,14	- 15	229	+ 3	312	- 16,3	8,5
67	3x60	7,23	- 13,5	240	+ 7,4	302	- 19	9,1
90	3x60	6,30	- 24,5	237	+ 6	266	- 28,5	7,6
Mittelwert		6,89	<u>- 17,5</u>	235,3	<u>+ 6</u>	288	<u>- 23,8</u>	
68	3x180	2,39	- 71,4	258	+ 16	89,2	- 76	12,3
69	3x180	3,70	- 55,7	260	+ 16,5	142	- 61,9	11,9
89	3x180	3,74	- 55,8	256	+ 15	146	- 60,8	7,2
Mittelwert		3,28	<u>- 60,7</u>	258	<u>+ 15,5</u>	127	<u>- 66</u>	
70	3x250	3,65	- 56,3	290	+ 30	126	- 66	12,9
71	3x250	2,95	- 64,6	305	+ 36,5	96,7	- 74	5,0
Mittelwert		3,30	<u>- 60,5</u>	297,5	<u>+ 33</u>	111	<u>- 70,2</u>	
72	3x400	1,90	- 77,2	361	+ 62	52,7	- 84	15,0
73	3x400	3,45	- 41,5	357	+ 60	96,6	- 74	11,7
Mittelwert		2,65	<u>- 68,2</u>	359	<u>+ 61</u>	74	<u>- 80,3</u>	

Bernsteinsäureverfütterung

Einfluß auf die Leberfette

II. Neutralfette und Phospholipide

A = Aktivität in Imp. $\times 10^4/\text{min.}$, G = Gewicht in mg, $\% \pm$ = prozentuelle Abweichung vom Leerwert im Sinne einer Förderung (+) oder Hemmung (-).

Vers. Nr.	Menge (mg)	Neutralfette		Phospholipide		N : P	
	A	$\% \pm$	G	A	$\% \pm$	A	G
64	3x60	2,38	58,3	5,10	+ 44	1:2,14	1:2,54
67	3x60	1,65	56,2	3,66	+ 3	1:2,18	1:2,75
90	3x60	4,26	56,5	3,23	- 9	1:0,76	1:2,51
Mittelwert	2,76	- 29	57	3,89	+ 12,5	1:1,45	1:2,60
68	3x180	1,23	80,3	1,47	- 58,6	1:1,19	1:1,86
69	3x180	1,76	73,4	1,94	- 45,3	1:1,10	1:2,18
89	3x180	1,16	70,4	2,66	- 15	1:2,29	1:2,13
Mittelwert	1,39	- 64,3	74,9	2,04	- 42,5	1:1,47	1:2,04
70	3x250	1,45	95,1	1,74	- 51	1:1,20	1:1,69
71	3x250	0,83	65	1,84	- 48,2	1:2,21	1:3,30
Mittelwert	1,14	- 70,6	80,1	1,79	- 49,5	1:1,57	1:2,34
72	3x400	0,81	84,4	0,95	- 73,2	1:1,17	1:1,95
73	3x400	1,90	103,5	1,83	- 48,4	1:0,96	1:2,05
Mittelwert	1,35	- 65,3	94	1,59	- 60,8	1:1,03	1:1,9

Bernsteinsäureverfütterung

Einfluß auf die CO₂ - Ausscheidung
I. Aktivität (Impulse/min.)

Vers. Nr.	Menge Bernst.S. (g)	15'	30'	60'	90'	120	150'
64	3x60	1,00	3,16	2,93	5,66	9,11	6,34
67	3x60	0,72	5,60	13,60	9,92	7,37	5,00
90	3x60	1,80	4,58	14,55	4,16	2,73	2,50
Mittel- wert		<u>1,17</u>	<u>4,44</u>	<u>10,03</u>	<u>6,58</u>	<u>6,40</u>	<u>4,61</u>
Gesamt- wert		<u>1,17</u>	<u>5,61</u>	<u>15,64</u>	<u>22,22</u>	<u>28,62</u>	<u>33,23</u>
68	3x180	3,50	4,86	6,80	9,70	17,45	6,50
89	3x180	1,02	9,37	5,76	4,90	4,88	5,69
Mittel- wert		<u>2,29</u>	<u>7,11</u>	<u>6,28</u>	<u>7,30</u>	<u>11,16</u>	<u>6,25</u>
Gesamt- wert		<u>2,29</u>	<u>9,40</u>	<u>15,68</u>	<u>22,98</u>	<u>34,10</u>	<u>40,39</u>
70	3x250	0,28	5,32	10,51	8,02	5,95	5,95
71	3x250	1,23	3,74	9,47	11,89	14,46	9,71
Mittel- wert		<u>0,76</u>	<u>4,53</u>	<u>9,98</u>	<u>9,96</u>	<u>10,20</u>	<u>7,83</u>
Gesamt- wert		<u>0,76</u>	<u>5,29</u>	<u>15,27</u>	<u>25,23</u>	<u>35,43</u>	<u>43,26</u>
72	3x400	2,22	3,50	8,94	5,50	10,65	7,76
73	3x400	0,77	6,19	14,42	9,78	7,88	4,38
Mittel- wert		<u>1,49</u>	<u>4,85</u>	<u>11,68</u>	<u>7,64</u>	<u>11,26</u>	<u>6,07</u>
Gesamt- wert		<u>1,49</u>	<u>6,34</u>	<u>18,02</u>	<u>25,66</u>	<u>36,92</u>	<u>42,99</u>

II. Spezifische Aktivität (Impulse/min.)

Vers. Nr.	Menge (mg)	15'	30'	60'	90'	120'	150'
64	3x60	0,89	2,60	2,71	3,71	3,34	3,22
67	3x60	1,31	4,42	6,43	5,49	4,11	3,20
90	3x60	0,90	1,92	5,06	1,43	0,91	1,25
Mittel- wert		<u>1,03</u>	<u>2,78</u>	<u>4,73</u>	<u>3,54</u>	<u>2,79</u>	<u>2,56</u>
68	3x180	2,36	3,00	4,63	4,81	4,03	3,28
89	3x180	1,12	3,77	2,73	1,96	2,07	2,06
Mittel- wert		<u>1,74</u>	<u>3,38</u>	<u>3,68</u>	<u>3,38</u>	<u>3,05</u>	<u>2,67</u>
70	3x250	0,16	3,22	2,63	2,92	2,45	1,21
71	3x250	1,37	3,85	5,62	6,14	4,66	3,71
Mittel- wert		<u>0,77</u>	<u>3,52</u>	<u>4,12</u>	<u>4,53</u>	<u>3,55</u>	<u>2,46</u>
72	3x400	1,76	2,26	3,74	3,24	3,46	2,53
73	3x400	0,48	3,35	5,41	3,87	3,03	1,85
Mittel- wert		<u>1,12</u>	<u>2,80</u>	<u>4,57</u>	<u>3,55</u>	<u>3,24</u>	<u>2,19</u>

III. Gewicht (g)

Vers. Nr.	Menge	Gew.	Mittel- wert	Vers. Nr.	Menge	Gew.	Mittel- wert
64	3x60	9,64		68	3x180	12,90	
67	3x60	9,10	<u>11,90</u>	89	3x180	13,21	<u>13,06</u>
90	3x60	15,26					
70	3x250	13,47	<u>13,16</u>	72	3x400	13,03	<u>13,31</u>
71	3x250	12,84		73	3x400	13,58	

Bernsteinsäureverfütterung Einfluß auf die Leberfette I. Gesamtfette

% Förderung

70

60

50

40

30

20

10

0

10

20

30

40

50

60

70

% Hemmung

Menge
der
Säure
(mg)

400

300

250

200

180

100

60

— Gewicht

— Aktivität

— spez. Aktivität

% Förderung

Bernsteinsäureverfütterung

Einfluß auf die Leberfette

II. Neutralfette und Phospholipide

Menge (mg)
Säure

Gew. Neutralfette

Akt.

Gew. Phospholipide

Akt.

% Hemmung

70

60

50

40

30

20

10

0

10

20

30

40

50

60

70

60

100

180

200

250

300

400

Aktivität
Imp./min $\times 10^3$

Bereitstellung von ...
Einfluss auf die ...-Ausscheidung
I. Gesamtschaltung

5

4

3

2

1

3x250 mg

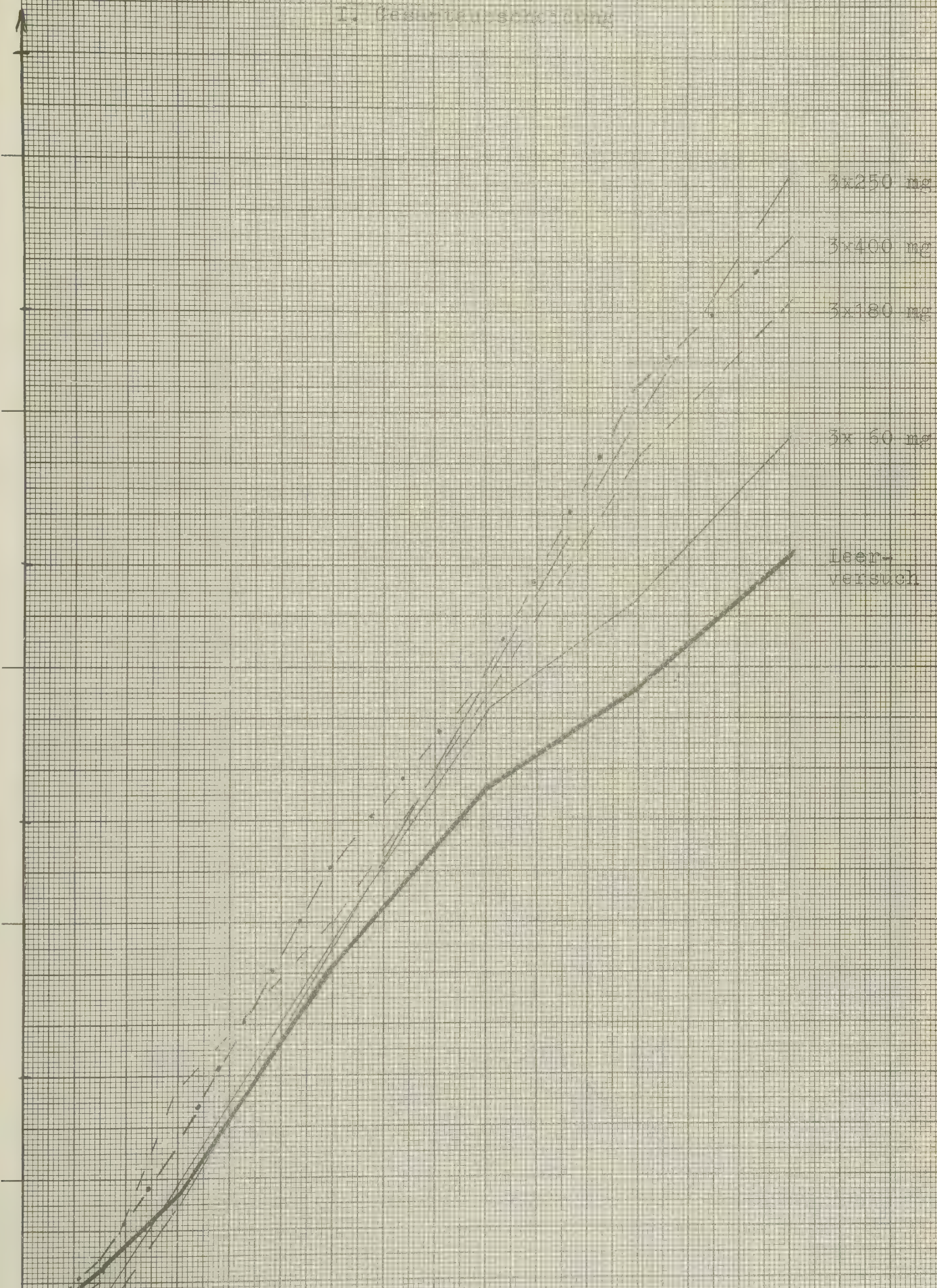
3x400 mg

3x380 mg

3x 60 mg

Leer-
versuch

Zeit (min)



Aktivität
(Imp./min. $\times 10^3$)

Bernsteinsäureverfütterung
Einfluß auf die CO_2 -Ausscheidung
II. Spezifische Aktivität

3x60 mg

3x180 mg

3x250 mg

3x400 mg

Leerversuch



Zeit (min)

K o r k s ä u r e v e r f ü t t e r u n g

Einfluß auf die Leberfette

I. Gesamtfette

A = Aktivität in Imp. $\times 10^4$ /min., G = Gewicht in mg, % $\pm$ = prozentuelle Abweichung vom Leerwert im Sinne einer Förderung (+) oder Hemmung (-)

Vers. Nr.	Menge (mg)	A	% $\pm$	G	% $\pm$	spez. A	% $\pm$	Lebergewicht
32	3x60	7,25	- 13	217	- 2,5	334	- 10	8,0g
34	3x60	8,47	+ 1,5	203	- 9	417	+ 12	4,3g
Mittelwert		7,86	<u>- 5,7</u>	210	<u>- 5,7</u>	376	<u>+ 1</u>	
35	3x180	4,56	- 45	150	- 33	303	- 19	13,6g
36	3x180	4,13	- 50	169	- 24	245	- 34	12,4g
Mittelwert		4,35	<u>- 48</u>	160	<u>- 27</u>	273	<u>- 27</u>	
38	3x250	6,88	- 18	-	-	-	-	12,8g
40	3x250	2,00	- 76	257	+ 15	78	- 79	7,6g
43	3x250	5,84	- 31	248	+ 11	236	- 37	6,8g
Mittelwert		4,91	<u>- 41</u>	253	<u>+ 13</u>	195	<u>- 58</u>	
44	3x400	3,50	- 58	210	- 15	376	+ 1	10,5g
63	3x400	7,55	- 10	215	- 4	351	- 6	7,5g
66	3x400	4,33	- 48	286	+ 28	161	- 57	7,0g
Mittelwert		5,13	<u>- 39</u>	230	<u>+ 3</u>	222	<u>- 41</u>	

K o r k s ä u r e v e r f ü t t e r u n g

Einfluß auf die Leberfette

II. Neutralfette und Phospholipoide

A = Radioaktivität in Imp. $\times 10^4/\text{min.}$, G = Gewicht in mg, % $\pm$ = prozentuelle Abweichung vom Leerwert im Sinne einer Förderung (+) oder Hemmung (-).

Vers. Nr.	Menge A	Neutralfette % $\pm$	A	% $\pm$	Phospholipoide G	N A	P G
32	3x60 1,85	- 52	4,20	- 10	- 18	1:2,27	1:2,23
34	3x60 2,87	- 26	6,80	-	+ 120	1:2,45	-
Mittelwert	2,36	- 39	5,50	- 10	+ 55	1:2,36	1:2,23
35	3x180 1,99	- 64,2	2,47	- 34	- 31	1:1,24	1:1,22
36	3x180 1,70	- 66,3	1,91	+ 2	- 46	1:1,12	1:1,22
Mittelwert	1,85	- 52,4	2,19	- 9	- 38,3	1:1,19	1:1,43
38	3x250 2,69	- 30,7	3,42	-	- 3,7	1:1,27	-
40	3x250 0,83	- 76,7	1,33	+ 15	- 62,6	1:1,60	1:2,0
43	3x250 1,95	- 49,8	3,75	- 1	+ 5,6	1:1,94	1:2,36
Mittelwert	1,82	- 53,2	2,83	+ 7	- 20	1:1,50	1:2,16
44	3x400 0,54	- 86,1	2,55	- 8	- 28,2	1:4,7	1:1,63
63	3x400 1,69	- 56,5	5,75	- 26	+ 61,9	1:3,4	1:2,75
66	3x400 1,73	- 55,5	2,13	- 44	- 40,3	1:1,24	1:3,65
Mittelwert	1,32	- 66	3,47	- 26	- 2,3	1:2,63	1:2,51

K o r k s ä u r e v e r f ü t t e r u n g

Einfluß auf die CO₂- Ausscheidung

I. Aktivität (Impulse x 10⁴/min.)

Vers. Nr.	Menge (mg)	15'	30'	60'	90'	120'	150'
32	3x60	1,09	2,68	4,04	8,14	4,24	3,38
34	3x60	2,32	4,43	11,00	8,14	4,98	2,22
Mittel- wert		<u>1,70</u>	<u>4,05</u>	<u>7,52</u>	<u>8,14</u>	<u>5,11</u>	<u>2,80</u>
Gesamt- wert		<u>1,70</u>	<u>5,75</u>	<u>13,27</u>	<u>21,41</u>	<u>26,52</u>	<u>29,32</u>
35	3x180	1,52	8,41	12,37	7,64	4,76	5,78
36	3x180	2,05	7,15	14,45	5,93	6,23	2,33
Mittel- wert		<u>1,79</u>	<u>7,78</u>	<u>13,41</u>	<u>6,78</u>	<u>5,50</u>	<u>4,01</u>
Gesamt- wert		<u>1,79</u>	<u>9,57</u>	<u>22,98</u>	<u>29,76</u>	<u>35,26</u>	<u>39,27</u>
38	3x250	2,20	6,08	5,15	5,98	5,04	6,90
40	3x250	3,27	8,65	14,10	8,15	4,03	5,30
43	3x250	5,30	9,00	14,10	20,30	7,70	5,90
Mittel- wert		<u>3,59</u>	<u>7,91</u>	<u>11,12</u>	<u>11,48</u>	<u>5,59</u>	<u>6,03</u>
Gesamt- wert		<u>3,59</u>	<u>11,50</u>	<u>22,62</u>	<u>34,10</u>	<u>39,65</u>	<u>45,68</u>
44	3x400	4,16	3,28	2,95	7,53	3,15	4,74
63	3x400	4,42	8,22	21,35	7,24	5,28	3,48
66	3x400	2,59	1,90	7,54	5,51	6,19	8,34
Mittel- wert		<u>3,79</u>	<u>4,47</u>	<u>10,67</u>	<u>6,76</u>	<u>4,87</u>	<u>5,52</u>
Gesamt- wert		<u>3,79</u>	<u>8,26</u>	<u>18,93</u>	<u>25,69</u>	<u>30,56</u>	<u>36,08</u>

II. Spezifische Aktivität (Imp. x 10⁴/ min.)

Vers. Nr.	Menge (mg)	15'	30'	60'	90'	120'	150'
32	3x60	0,58	1,39	2,38	2,63	2,22	1,74
34	3x60	2,54	5,40	7,00	5,44	3,40	2,11
Mittelwert		<u>1,56</u>	<u>3,40</u>	<u>4,69</u>	<u>4,04</u>	<u>2,81</u>	<u>1,93</u>
35	3x180	0,83	3,03	3,38	2,70	1,76	2,53
36	3x180	1,94	4,54	6,32	2,53	2,42	1,02
Mittelwert		<u>1,39</u>	<u>3,79</u>	<u>5,00</u>	<u>2,62</u>	<u>2,09</u>	<u>1,78</u>
38	3x250	2,39	5,17	4,08	3,62	3,37	3,98
40	3x250	3,46	7,86	7,00	3,76	2,67	2,66
43	3x250	3,62	5,67	7,07	6,32	3,48	2,49
Mittelwert		<u>3,15</u>	<u>6,23</u>	<u>6,05</u>	<u>4,42</u>	<u>3,17</u>	<u>3,07</u>
44	3x400	3,98	3,26	2,65	3,58	2,00	2,58
63	3x400	3,40	7,13	13,10	4,5	3,45	2,45
66	3x400	2,80	2,52	6,08	5,63	5,52	5,05
Mittelwert		<u>3,39</u>	<u>4,30</u>	<u>7,28</u>	<u>4,72</u>	<u>3,66</u>	<u>3,36</u>

III. Gewicht (g)

Vers. Nr.	Menge	Gew.	Mittelwert	Vers. Nr.	Menge	Gew.	Mittelwert
32	3x60	11,55	<u>9,43</u>	35	3x180	10,33	<u>9,98</u>
34	3x60	7,31		36	3x180	9,62	
38	3x250	8,24	<u>10,27</u>	44	3x400	8,70	<u>7,96</u>
40	3x250	9,73		63	3x400	8,50	
43	3x250	12,83		66	3x400	6,68	

% Förderung

Korksäureverfütterung
Einfluß auf die Leberfette
I. Gesamtfette

70
60
50
40
30
20
10
0
10
20
30
40
50
60
70

Gewicht

Aktivität

spez. Aktivität

Menge
der (mg)
Säure



400

300

250

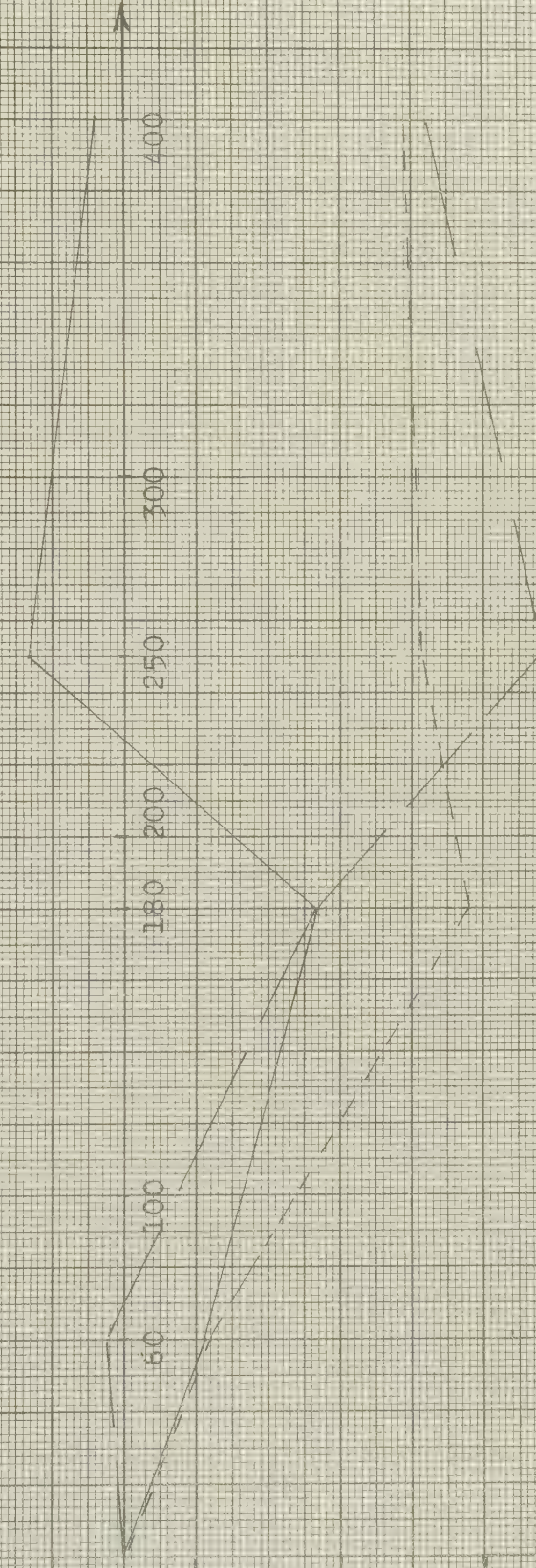
200

180

100

60

% Hemmung



Korksaureverfütterung
Einfluß auf die Leberfette
II. Neutralfette und Phospholipide

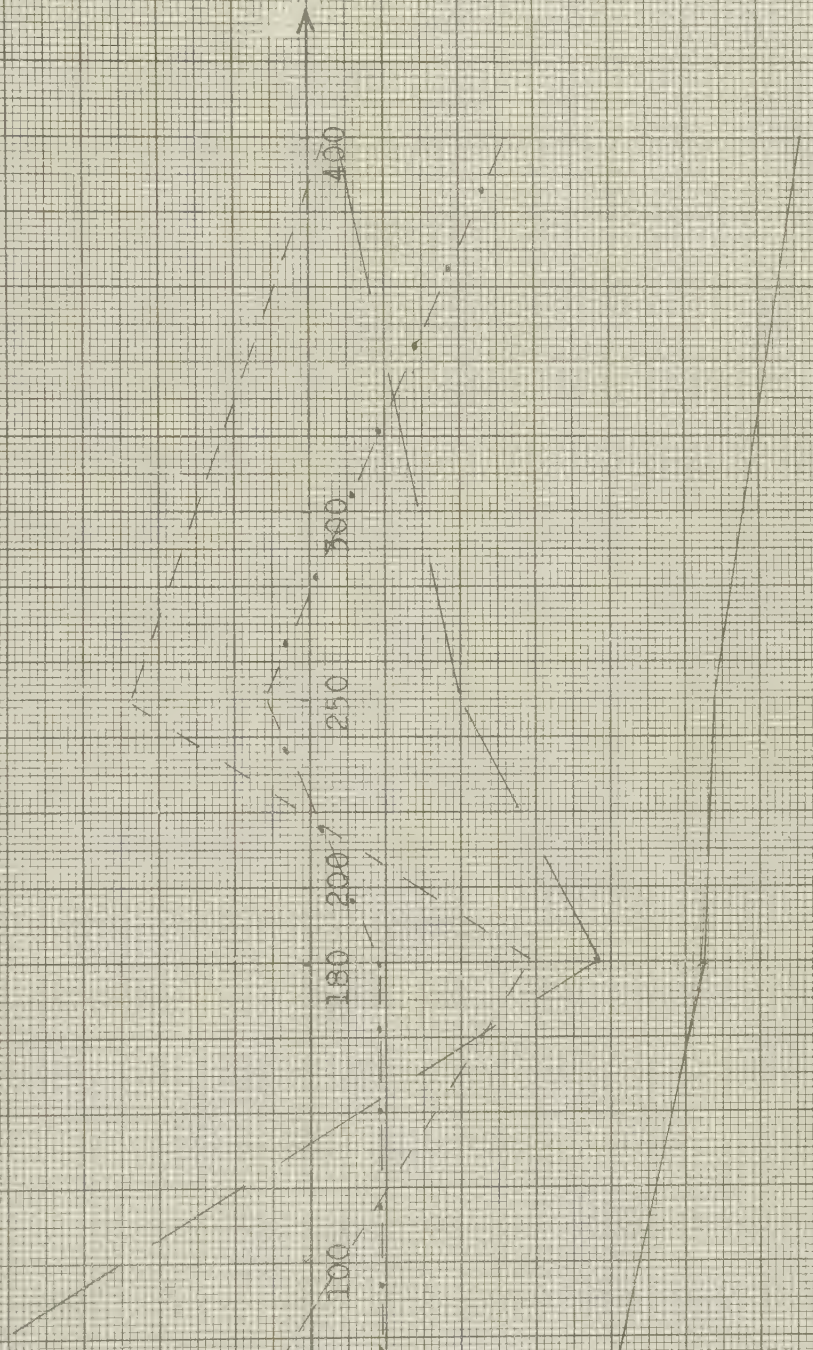
A % Förderung

70
60
50
40
30
20
10
0
10
20
30
40
50
60
70

Gew. Akt. Phospholipide
Gew. Akt. Neutralfette

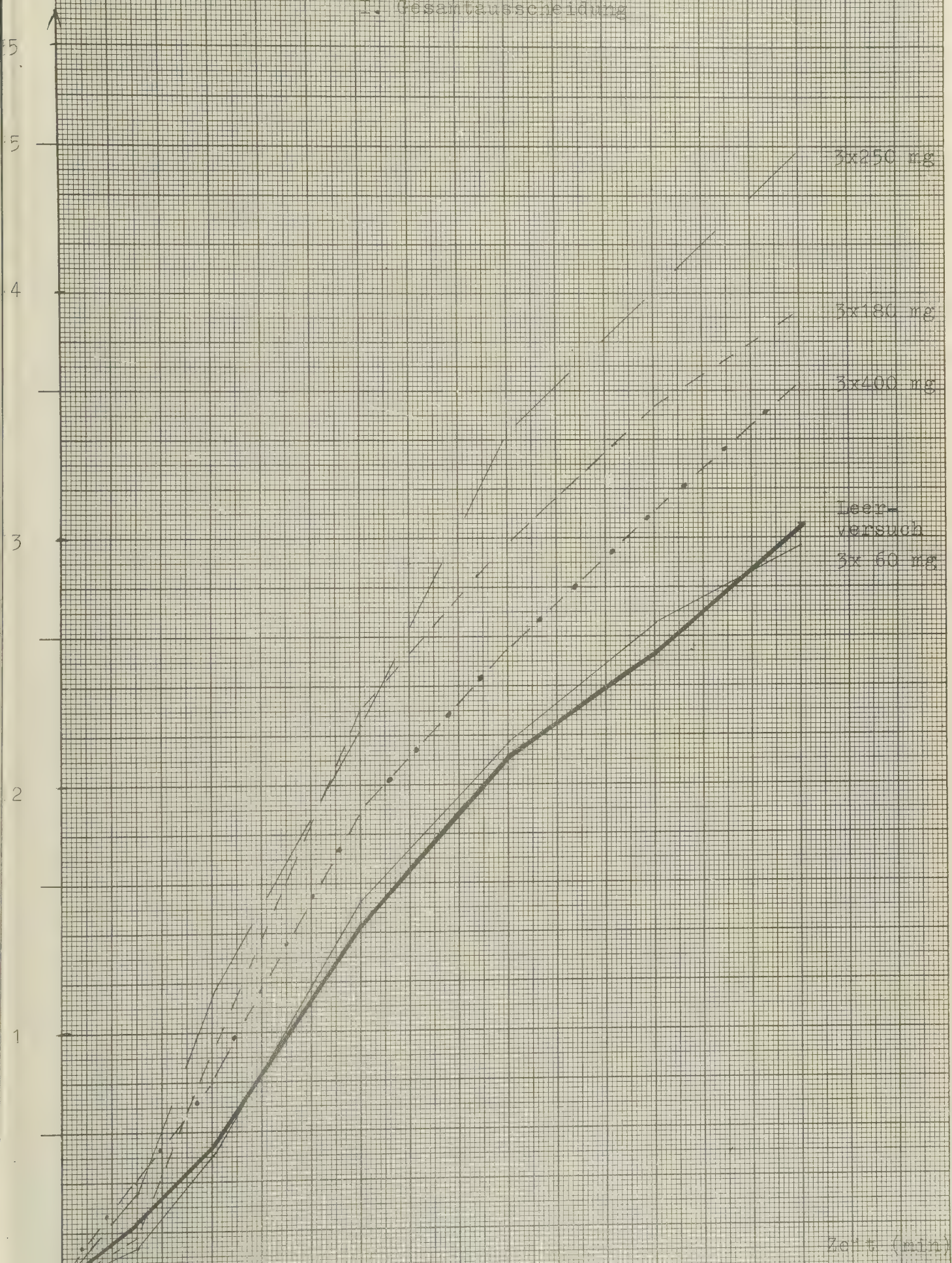
Menge der (mg) Säure

% Hemmung



Aktivität
(Imp./min)

Kohlensäureverfütterung
Einfluß auf die CO_2 -Ausscheidung
I. Gesamtausscheidung



Korkeäureverfütterung Einfluß auf die CO₂- Ausscheidung II. Spezifische Aktivität

A Aktivität
(Impulse/min. x 10³)

3x60 mg
3x180 mg
3x250 mg
3x400 mg
leer-
versuch



Zeit (min)

D i s k u s s i o n

Bei der Diskussion der Ergebnisse, die wir im Rahmen unserer Versuchsanordnung erhielten, müssen wir uns erst klar werden über die Grenzen dieser Methodik und über den Aussagewert der dabei gewonnenen Resultate. Während wir bei der CO_2 -Ausscheidung einen Einblick in den zeitlichen Ablauf der Verbrennungsvorgängen bekommen, halten wir bei den Fetten die momentane Stoffwechsellage in der Leber zu einem willkürlich gewählten Zeitpunkt fest. Denn der Fettgehalt der Leber ist wie alle biologischen Vorgänge in einem ständigen Fließgleichgewicht begriffen; er ist die Resultante aus zwei entgegengesetzten Vorgängen: der Zufuhr und Synthese von Fetten einerseits und ihrem Abtransport und Abbau andererseits. Daher kann eine Fettanhäufung entweder durch vermehrte Zufuhr von Fettsäuren zur Leber und eine gesteigerte Synthese oder durch einen verminderten Abtransport aus der Leber in die peripheren Gewebe und einen verminderten Abbau der Fette in der Leber zustande kommen. Im umgekehrten Sinn gilt natürlich das Gleiche für einen erniedrigten Fettspiegel in der Leber. Vegetativum, Hormone und andere metabolische Einflüsse greifen regulierend in diesen Vorgang ein (14).

Bei der Methodik, der wir uns bedienten, wurde neben der Bestimmung des Gewichtes der Einbau von markiertem Acetat in die einzelnen Substanzen festgestellt. Die Essigsäure wurde deshalb als tracer verwendet, weil sie im Stoffwechsel eine Zentralstellung einnimmt. Sie steht in ihrer aktivierten Form am Ende des Abbaus der Fette, Kohlenhydrate und eines großen Teils der Eiweißstoffe und ist auch die Ausgangssubstanz für die Synthese. Dabei können wir nur mittelbare Schlüsse auf die Stoffwechselwirkung der einzelnen Säuren ziehen, abgesehen von den Fehlerquellen, die der Methodik anhaften: ungenaue Verabreichung des radioaktiven Acetats und seine unkontrollierbare Resorption.

Ergibt sich eine verminderte Aktivität in den Fetten, so kann die Ursache darin zu suchen sein: daß

1. die Synthese gehemmt ist und damit auch weniger markiertes Acetat eingebaut wird und
2. durch ein vermehrtes Angebot an inaktiven im Intermediär-

stoffwechsel entstehendes Acetatbruchstücke relativ weniger markiertes Acetat bei gesteigerter Synthese in den Substanzen erscheint, was als Hemmung imponiert, wenn man die Aktivität für sich betrachtet. Ein genaues Bild bekommt man erst, wenn man die Fette auch gewichtsmäßig erfaßt.

3. die Substanz als Ganzes an die Alkoholkomponente (z.B. Glycerin) angelagert wird (z.B. die Acetalsäure an das Glycerid).

Liegt eine gesteigerte Aktivität in den Fetten vor, so ist die Ursache in einem vermehrten Einbau von markierten Acetatbruchstücken zu suchen, dies kann vor sich gehen

1. durch Synthese ganzer Fettsäureketten
2. durch Verlängerung präformierter Fettsäuren durch Anlagerung radioaktiver C_2 -Bruchstücke.

Es ist nötig, den Fettstoffwechsel zusammen mit allen anderen Stoffwechselvorgängen des Organismus zu sehen und ihn nicht isoliert zu betrachten. Zur Fettsynthese sind, wie in der Einleitung bereits ausführlich geschildert, erforderlich: Energie (ATP), CoA und reduziertes Pyridin - Co-Ferment. Diese Stoffe kommen größtenteils aus dem Pentosephosphat- und dem Zitronensäurecyklus.

Einblick in diese Verbrennungsvorgänge läßt die Messung des ausgeatmeten CO_2 zu, mit Hilfe der wir Aussagen machen können über die Menge, den zeitlichen Ablauf und den C^{14} -Gehalt. Daraus wiederum lassen sich auf die Energielage Schlüsse ziehen (15).

Le e r v e r s u c h

Um für die Ergebnisse der Fütterungsversuche eine Bezugsebene zu erhalten, führten wir mehrere Kontrollversuche durch, bei denen unter sonst gleichen Bedingungen die Fütterung mit der zu untersuchenden Substanz ausblieb. Diese Ergebnisse werden im folgenden unter der Bezeichnung Leer- oder Kontrollversuch geführt. Um gröbere Schwankungen, wie sie durch Jahreszeit, unterschiedliche Fütterung und Zucht bedingt sein können, auszuschalten, setzten wir die Versuche nicht hintereinander an, sondern fügten sie in bestimmten zeitlichen Intervallen in die Fütterungsversuche ein.

Neben der Bestimmung der Gesamtfette führten wir eine Auftrennung in acetonlösliche und acetonunlösliche Fraktionen durch. Mit dem acetonunlöslichen Anteil werden die Phospholipide erfaßt, mit dem acetonlöslichen die Neutralfette. Dabei liegt das Gewichtsverhältnis von Neutralfetten und Phospholipoiden in der Leber nach unseren Versuchen 1:1,87, das Verhältnis der Aktivität dagegen 1:0,92. Während also der Gehalt der Phospholipide zwei Drittel des Fettgehaltes der Leber ausmacht, ist die Aktivität etwa zu gleichen Teilen verteilt. Die Begründung ist darin zu suchen, daß der Gehalt an ungesättigten Fettsäuren weit höher liegt in den Phospholipoiden als in den Neutralfetten. Diese Tatsache konnte Bruce an Hand von Untersuchungen an Taubenlebern nachweisen (16). Das markierte Acetat, das zur Synthese von Fettsäuren herangezogen wird, findet sich also in den Neutralfetten wieder. Wird markiertes Acetat in die Phospholipide eingebaut, so kann es nur auf dem Weg der Kettenverlängerung der verschiedenen Fettsäuren geschehen. (17).

O x a l s ä u r e

Die Oxalsäure nimmt unter den Dicarbonsäuren eine Sonderstellung ein. Sie ist eine weit stärkere Säure als die höherketigen Glieder der Dicarbonsäuren, ihre Dissoziationskonstante liegt um drei Zehnerpotenzen höher als bei den folgenden. In Form von Salzen ist sie im Pflanzenreich weit verbreitet und spielt somit in der Nahrung auch eine gewisse Rolle.

Im Blut läßt sich stets eine gewisse Menge an Oxalsäure nachweisen. Beim Menschen beträgt der Oxalsäurespiegel im Blut 0,2 - 0,8 mg%. Die Ausscheidung im Harn liegt beim Menschen bei 20 - 50 mg/die. Sie kann wesentlich gesteigert sein, so daß es zur Ausfällung von Oxalatkonkrementen in der Niere und den ableitenden Harnwegen kommt. Bei dem seltenen Krankheitsbild der familiären idiopathischen Oxalose steigt die Oxalsäure-Konzentration im Blut und im Harn sehr stark an und ihr Salz wird im Parenchym der Niere, im Myocard, im Knochen und in anderen Organen abgelagert. Der Tod tritt meist durch Urämie ein (18).

Im Zusammenhang mit der Pathologie des Oxalatstoffwechsels, die einmal zur Bildung von Oxalatsteinen und zum anderen zum schweren Krankheitsbild der Oxalose führt, interessiert natürlich die Frage, ob es durch vermehrte Aufnahme in der Nahrung oder pathologisch gesteigerte Bildung im Intermediärstoffwechsel zur Anhäufung der Oxalsäure kommt.

Vermehrte orale Zufuhr von Oxalsäure bis über das physiologische Maß hinaus, führte nach Untersuchungen von Acker und Mitarbeitern (19) zu keiner wesentlichen Erhöhung der Urinausscheidung. Von zahlreichen Autoren durchgeführte Untersuchungen hinsichtlich des Verbleibs eines wesentlichen Teils der applizierten Oxalsäure ergaben keine befriedigende Auskunft (20, u.a.).

Weinhouse und Friedmann (21) stellten nach Injektion von radioaktivem Oxalat bei Ratten in der im Verlauf von 5 Stunden ausgeatmeten Kohlensäure nur eine sehr geringfügige Aktivität fest. Bernhard und Mitarbeiter fanden bei langfristigen Versuchen unter den gleichen Bedingungen stets radioaktives C in der Ausatemungsluft und den anderen Exkreten. Bei sterilem Darm dage-

gen waren bei oraler Applikation von isotopem Oxalat die Aktivitäten in der Atmungsluft gleich Null. Daraus zogen die Autoren den Schluß, daß die Darmflora für den Abbau der Oxalsäure verantwortlich zu machen ist, während der tierische Organismus dazu nicht in der Lage ist. Allerdings unterliegt der Abbau der Oxalsäure durch Mikroorganismen des Darmes, wie aus Bilanzversuchen ersichtlich war, erheblichen Schwankungen. Diese Tatsache könnte - auf den Menschen übertragen - eine Erklärung für das Auftreten von Oxalatsteinen in der Niere abgeben.

Das schwere Krankheitsbild der Oxalose dagegen läßt sich durch mangelhaften Abbau von oral zugeführtem Oxalat allein nicht erklären. Hier muß eine Stoffwechselstörung mit Anhäufung intermediär gebildeter Oxalsäure postuliert werden. Darauf weist schon das gehäuft familiäre Auftreten dieser Krankheit hin. Woher kann diese Oxalsäure kommen?

Burns und andere konnten beweisen, daß Oxalsäure beim Abbau der Ascorbinsäure entsteht (22). Ferner besteht ein Zusammenhang mit dem Eiweißstoffwechsel. Elder und Wyngarden (23) führten ausgedehnte Untersuchungen mit radioaktivem Glycin durch, das im Organismus reichlich vorkommt und auch als Abbauprodukt von Serin erscheint. Die Aktivität der dabei im Harn ausgeschiedenen Oxalsäure war beträchtlich. Dies beweist den Abbau von Glycin zu Oxalsäure. Im normalen Organismus scheint dies allerdings nicht der Hauptabbauweg zu sein, vielmehr muß angenommen werden, daß pathologischerweise nur dieser Weg möglich ist, während der normale Abbauweg, der zur aktivierten Ameisensäure führt, wegen eines Enzymdefektes oder dergleichen nicht beschritten werden kann. Dies läßt sich auch experimentell bestätigen.

Andere Autoren glauben, daß nur etwa die Hälfte der ausgeschiedenen Oxalsäure aus der genannten Quelle stammen kann, (24). Welche das sein könnten, ist bis jetzt nicht bekannt.

Eigene Ergebnisse:

Bei der Oxalsäure konnten wir, wie oben bereits erwähnt, nur kleinere Mengen als bei den anderen Fütterungsversuchen verwenden, da bereits bei 60 mg Reizerscheinungen auftraten, die schon makroskopisch in geblähtem Kropf, schmierig belegten Schleimhäuten und Regurgitieren des Mageninhaltes kenntlich waren.

Doch zeigten schon diese kleinen Fütterungsmengen deutliche Veränderungen im Fettstoffwechsel der Leber und in der CO_2 -Ausscheidung. Bei den Gesamtfetten zeigte sich gewichts- und aktivitätsmäßig eine deutliche Förderung bis über 40%. Entsprechend war der Anstieg bei der Auftrennung in Neutralfette und Phospholipide. Die Gesamt- C^{14}O_2 -Ausscheidung war ebenfalls deutlich erhöht. Die Kurve der spezifischen Aktivität lag über dem Wert des Kontrollversuches, hatte ihr Maximum nach einer halben Stunde und fiel dann allmählich ab. Die gewichtsmäßige CO_2 -Ausscheidung war geringfügig erhöht.

Bei höheren Konzentrationen sinken sämtliche Kurven merklich ab. Bei 45 mg fällt die Gewichtskurve der Gesamtfette auf 15% über dem Nullwert und erreicht ihn bei 60 mg, während die Kurve der spezifischen Aktivität wesentlich rascher absinkt. Entsprechend ist der Verlauf der Aktivitätskurven bei den Neutralfetten und Phospholipiden; hier bleibt allerdings das Gewicht nahezu konstant. Ähnlich liegen die Verhältnisse bei der CO_2 -Ausscheidung: Deutlicher Abfall der C^{14}O_2 -Ausscheidung sowohl bei der Gesamtausscheidung als auch bei der spezifischen Aktivität. Lediglich die Gewichtskurve zeigt einen leichten Anstieg.

Aus diesen Ergebnissen läßt sich schließen, daß geringe Dosen von Oxalsäure den Einbau von markiertem Acetat in die Fette der Leber fördern und die Verbrennung des Acetats beschleunigen. Aus der Tatsache, daß die Gewichtskurve über der Aktivitätskurve liegt, läßt sich folgern, daß neben der zugesetzten markierten Essigsäure noch weitere Acetatbruchstücke mobilisiert und in größerem Umfange in die Leberfette eingebaut werden. Das gewichtsmäßige Überwiegen der Phosphatide läßt auf vermehrten Abtransport in die Peripherie schließen.

Dieser fördernde Effekt geht mit steigender Konzentration zurück. Daß dabei die Aktivität durchwegs rascher absinkt, das heißt weniger markiertes Acetat ein- und abgebaut wird, hängt sicher zu einem großen Teil mit der obenbeschriebenen Reizung des Gastrointestinaltraktes zusammen, die zu einer verminderten Resorption der markierten Essigsäure, die ja erst kurz vor Versuchsbeginn instilliert wird, führt.

B e r n s t e i n s ä u r e

Bernsteinsäure ist im Pflanzenreich weit verbreitet, man findet sie besonders reichlich in unreifen Früchten, ihren Namen hat sie von ihrem Vorkommen in Bernstein. Mit vier C-Atomen gehört sie in die Reihe der niederen Dicarbonsäuren und ist als solche in Wasser nur mäßig löslich und von geringem Säuregrad. In geringen Konzentrationen ist Bernsteinsäure stets im Blut vorhanden, der Blutspiegel liegt bei etwa 0,5 mg / 100 ml (26); er ist ebenso wie die Konzentration der Bernsteinsäure im Harn von der Nahrung weitgehend unabhängig. Schon bei älteren Untersuchungen wurde festgestellt, daß Bernsteinsäure nach peroraler Verabreichung nicht im Harn erscheint (25). Bei sehr hohen Gaben von Zucker fand man eine geringfügige Erhöhung der Ausscheidung von Bernsteinsäure (27). Bernhard und Mitarbeiter konnten an Hunden und durch Selbstversuche die eben erwähnten Befunde im Wesentlichen bestätigen (8). Sie fanden bei Verfütterung von 50 g Bernsteinsäure über 5 Tage bei Hunden nur 0,25 % der Säure unverändert im Harn wieder. Nach Flaschenträger und Hesoda (28) können Hunde bis zu 390 g Bernsteinsäure pro kg Körpergewicht und Stunde umsetzen. Bei Fütterungsversuchen mit Deuterium-markierter Bernsteinsäure war das Körperwasser nur wenig mit Deuterium angereichert, in den Leberfetten fand sich nur ein geringer D-Gehalt (6). Daraus läßt sich zumindest auf eine gute Verwertbarkeit der Bernsteinsäure im tierischen Organismus schließen.

Aufgrund zahlreicher Untersuchungen haben wir heute weitgehend Einblick in die Funktion der Bernsteinsäure im Stoffwechselgeschehen gewonnen: Die gute Verwertbarkeit der Bernsteinsäure im Organismus liegt darin begründet, daß sie im Endabbau des intermediären Stoffwechsels, dem Zitronensäurecyklus, als Zwischenprodukt auftritt. Sie entsteht hier durch oxydative Decarboxylierung der α -Ketoglutarsäure in ihrer aktiven Form in Bindung an das Co-Enzym A als Succinyl-Co A. Dieses Succinyl-Co A kann einmal zu synthetischen Zwecken verwendet werden. Zusammen mit Glykokoll bildet es den Porphyrinring über die δ -Aminolävulinsäure. Ferner leitet es den Abbau von freiem Acetacetat durch Übertragung des Co-Enzyms A ein (29). Im weiteren Umlauf des Zitronensäurecyklus wird die energiereiche

Bindung gelöst, wobei die Energie in Form von Guanosintriphosphat gespeichert wird. Der darauf folgende Schritt, die Dehydrierung der Bernsteinsäure zur Fumarsäure, wird durch die Succinodehydrogenase katalysiert, ein Ferment, das im Gegensatz zu den anderen reduzierenden Fermenten kein Pyridin im Coferment enthält und außerdem fest mit der Zellstruktur verbunden ist. Im weiteren Verlauf des Zitronensäurecyklus entsteht schließlich Oxalacetat, das man als Motor und Regulator des Zitronensäurecyklus bezeichnen kann.

Eine Beziehung zum Fettstoffwechsel besteht insofern, als das Endprodukt beim Abbau ungeradzahliger Fettsäuren, die Propionsäure, im wesentlichen durch Carboxylierung zu Bernsteinsäure weiterverarbeitet wird.

Eigene Ergebnisse:

Die Synthese der Fette in der Leber ist, durch Verfütterung der Bernsteinsäure, wie aus der Gewichtskurve ersichtlich, durchwegs gefördert. Sie steigt nahezu direkt proportional mit steigender Fütterungsmenge an und liegt bei 400 g 61% über dem Nullwert. Die Kurve der spezifischen Aktivität fällt bis 180 mg stark ab und verändert sich bei höheren Konzentrationen nicht mehr wesentlich. Die Gewichtskurve der Phosphatide steigt entsprechend den Gesamtfetten an und erreicht maximal 35 % Förderung. Bei den Neutralfetten zeigt sich nach anfänglicher Hemmung erst bei 180 mg Fütterungsmenge eine Förderung, die mit 26% bei einer Konzentration von 400 mg ihr Maximal erreicht. Die Aktivitätskurven liegen bei beiden Fraktionen unter dem Wert des Leerversuches.

Die Gewichtskurve der CO_2 -Ausscheidung nimmt mit steigenden Fütterungsmengen zu. Die Gesamt- C^{14}O_2 -Ausscheidung liegt deutlich über dem Kontrollversuch und steigt proportional der Konzentration an. Bei der spezifischen Aktivität besteht kein großer Unterschied zwischen den einzelnen Konzentrationen. Es läßt sich lediglich ein verzögerter Anstieg in den ersten 15 Minuten und ein verlangsamter Abfall gegenüber dem Leerversuch feststellen.

Zusammenfassend läßt sich für diese Ergebnisse folgende Erklärung finden:

Die Bernsteinsäure geht in den Zitronensäurecyklus ein und wird dort zu Oxalacetat abgebaut, was eine Aktivierung der Verbrennungsvorgänge zur Folge hat. Das zugesetzte markierte Acetat wird infolgedessen in vermehrtem Maße verbrannt: es findet

sich vermehrt radioaktives C in der Ausatemungsluft. Ähnliche Resultate erhielten Mathes und andere (30) bei Verfütterung mit markierter Bernsteinsäure.

Die bei diesen Verbrennungsvorgängen gewonnene Energie wird unter anderem auch zur Fettsynthese verwendet. Die zur Fettsynthese weiterhin notwendigen reduzierten Pyridin-Co-Fermente und das Co-Enzym A entsteht ebenfalls im Verlauf des Zitronensäurecyklus. Aus dem starken Abfall der spezifischen Aktivität geht hervor, daß neben dem zugesetzten markierten Acetat auch im Intermediärstoffwechsel frei werdende C_2 -Bruchstücke in großem Umfang zur Fettsynthese herangezogen werden. Aus Untersuchungen mit Deuterium-haltigem Succinat, die Bernhard an Ratten durchführte, geht hervor, daß Abbau- und Umwandlungsprodukte der Bernsteinsäure nur in geringem Maße in die Fette eingehen.

Die vermehrte Bildung von Phosphatiden in der Leber, die wohl die wichtigste Transportform der Fette darstellen, deutet auf eine Verschiebung der Fette von der Leber in die Depots. Der Fettspiegel der Neutralfette liegt zunächst ziemlich niedrig, weil die neugebildeten Fettsäuren durch Umesterung fortlaufend in die Phosphatide eingebaut werden. Bei höheren Konzentrationen steigt, wenn die Umesterung ihr Maximum erreicht hat, der Gehalt an Neutralfetten in der Leber an.

K o r k s ä u r e

Die Korksäure, die kaum wasserlöslich ist und nur einen geringen Säuregrad besitzt, hat ihren Namen von ihrem Vorkommen in der Rinde der Korkeiche. In kleinen Mengen findet sie sich auch im Kokos- und im Rizinusöl.

Sie gehört mit acht C-Atomen in die Gruppe der mittelkettigen Dicarbonsäuren, die im tierischen Organismus im allgemeinen nur schwer verwertbar sind. Verkade und Mitarbeiter (31) fanden bei Fütterungsversuchen an Hunden, die innerhalb von drei Tagen 2 g Korksäure pro kg Körpergewicht erhielten, 45% der verabreichten Dosis unverändert im Harn wieder. Den Einwand, die geringe Ausnutzung der Korksäure liege an ihrer schlechten Resorbierbarkeit, konnten verschiedene Autoren widerlegen, (32,33). Sie stellten übereinstimmend fest, daß es gleichgültig ist, ob man die Substanz peroral oder parental verabfolgt.

Im Intermediärstoffwechsel kann Korksäure durch -Oxydation aus Caprylsäure, der homologen Fettsäure, und durch β -Oxydation aus höherkettigen Dicarbonsäuren entstehen. Allerdings sind die dabei anfallenden Mengen gering. Bernhard (6) konnte dies dadurch beweisen, daß er deuteriumhaltige Korksäure verfütterte und anschließend die Konzentration des schweren Wasserstoffs im Urin bestimmte. Dabei fand er, daß die im Urin wieder erscheinende Korksäure nahezu den gleichen Deuteriumgehalt aufwies wie die verfütterte. Daraus läßt sich der Schluß ziehen, daß die Konzentration der im Intermediärstoffwechsel entstehenden Korksäure so klein ist, daß sie keine deutlich meßbare Verdünnung der Deuterium-markierten Korksäure im Urin bewirkt.

Spezifische biochemische Funktionen der Korksäure sind nicht bekannt. Die Resorption dürfte analog den mittelkettigen Fettsäuren über das Pfordtadersystem gehen. Veresterung, also Einbau in Glyceride, wäre denkbar. In dieser Form könnten sie, ähnlich wie es Schönheimer (34) bei den ebenfalls schlecht verwertbaren mittelkettigen Fettsäuren nachweisen konnte, für längere Zeit im Gewebe liegen bleiben. Der Abbau durch β -Oxydation geht nur sehr langsam vor sich. Der Hauptgrund für diese Reaktionsträgheit dürfte wohl darin liegen, daß die Korkeiche nicht in eine energiereiche, aktive Form überführt werden kann. Denn während sich Bernsteinsäure mit Co-Enzym A unter Mitwirkung von ATP zu Succinyl-Co A verbindet und in dieser Form besonders reak-

tionsfreudig wird, findet eine solche Reaktion bei Dicarbonsäuren mit 8 bis 10 C-Atomen nicht statt (10).

Eigene Ergebnisse:

Bei den Gesamtfetten zeigt sich bei Verfütterung von 60 mg Korksäure so gut wie keine Veränderung gegenüber dem Kontrollversuch. Mit zunehmender Konzentration der Fütterung fällt die Kurve der spezifischen Aktivität deutlich, ihr Minimum liegt bei 250 mg Korksäure. Die Gewichtskurve dagegen fällt zunächst bis zu 25% unter den Normalwert ab, steigt dann aber bei 250 mg deutlich über die Nulllinie, um dann bei höheren Konzentrationen langsam wieder abzusinken.

Bei der Auftrennung der Gesamtfette in Neutralfette und Phospholipide bietet sich ein anderes Bild: Während sich bei den Gesamtfetten bei einer Fütterungskonzentration von 60 mg Korksäure keine wesentliche Abweichung vom Nullwert zeigt, nimmt hier die Aktivität der Neutralfette ziemlich schroff ab, während die Aktivitätskurve der Phospholipide steil ansteigt; die Gewichtskurven verlaufen entsprechend, wenn auch nicht so abrupt. Bei 180 mg erreichen alle Werte ein Minimum, um - mit Ausnahme der Aktivitätskurve der Neutralfette - bei 250 mg wieder anzusteigen. Bei 400 mg erreichen die Gewichts- und Aktivitätskurven der Phospholipide wieder den Nullpunkt, während die Kurven der Neutralfette weiter absinken.

Bei der Bestimmung der CO_2 -Ausscheidung nimmt die Gesamtaktivität, bei einer Fütterungsmenge von 60 mg Korksäure beginnend, wo sie noch mit dem Leerwert verläuft, ständig zu, erreicht bei 250 mg ihr Maximum und fällt bei 400 mg wieder ab. Die relative Aktivität liegt bei jeder Fütterungsmenge höher als im Kontrollversuch. Sie nimmt proportional der Konzentration zu, hat ihren Gipfel bei 60 min. und fällt dann bis auf die Konzentration von 180 mg langsamer ab. Bei der gewichtsmäßigen Bestimmung des als BaCO_3 niedergeschlagenen CO_2 fällt eine starke Verminderung schon bei 60 mg auf, die bis 250 mg geringfügig ansteigt, um dann bei 400 mg auf etwa 60% des Kontrollwertes abzufallen.

Wenn wir die Ergebnisse der Fett- und der CO_2 Bestimmung gemeinsam betrachten, dann ließe sich folgender Zusammenhang denken:

Die Korksäure hemmt die Verbrennungsvorgänge im Organismus, denn die CO_2 -Ausscheidung liegt bei unseren Fütterungsversuchen durchwegs unter dem Kontrollwert. Es werden also weniger Acetatbruchstücke im Zitronensäurecyklus verbrannt. Das kann einmal daran liegen, daß wenige C_2 -Bruchstücke zur Verfügung stehen, z.B. bei mangelnder Mobilisierung aus dem Kohlenhydratstoffwechsel, oder daran, daß der Zitronensäurecyklus in irgend einer Weise gehemmt ist. Denkbar wäre in diesem Zusammenhang eine kompetitive Hemmung, wie wir sie auch von anderen Dicarbonsäuren kennen. Ein bekanntes Beispiel ist die Hemmung der Bernsteinsäure am Enzym der Succinodehydrogenase durch die ähnlich gebaute, aber vom Enzym nicht angreifbare Malonsäure. In jedem Falle werden damit weniger Energie, d.h. im wesentlichen ATP, und weniger reduziertes Pyridinferment frei. Damit fehlen auch wesentliche Voraussetzungen für die Synthese von Fettsäuren und Fetten aus den Grundbausteinen. In unseren Versuchen ist der Einbau von markiertem Acetat, das als Indikator für die Aktivität der Lipogenese angesehen werden kann, durchwegs gehemmt. Bei einer Konzentration von 60 mg Korksäure sind nur die Neutralfette gehemmt, während die Aktivität der Phospholipide beträchtlich über dem Kontrollversuch liegt. Dieser Befund läßt sich vielleicht so erklären, daß bevorzugt markiertes Acetat in die Phospholipoidfraktion eingebaut wird, was zu einem großen Prozentsatz sicherlich in einer Verlängerung der ungesättigten Fettsäureketten besteht. Dafür spräche auch der geringe Gewichtsanstieg der Phospholipide. Die Gesamt- C^{14}O_2 -Ausscheidung liegt um ein wenig unter dem Kontrollversuch, was mit den anderen Befunden gut übereinstimmt.

Bei 180 mg sinkt dann sowohl das Gewicht als auch die Aktivität sämtlicher Fettfraktionen, obwohl die CO_2 -Ausscheidung nahezu konstant bleibt. Dies zwingt zu der Annahme, daß der Mangel an Energie nicht die alleinige Ursache für die Hemmung der Fettsynthese ist, sondern noch ein anderer Mechanismus mitwirkt. Der Anstieg der Gesamtaktivität in der Ausatemluft läßt sich auf zweierlei Weise erklären: Zum einen wird das zur Fettsynthese nicht benötigte markierte Acetat zum Teil verbrannt, zum anderen werden in geringem Maße C_2 -Bruchstücke mobilisiert, wie oben angeführt, so daß das zugeführte markierte Acetat vermehrt verbrannt wird.

Bei höheren Konzentrationen kommt es zum Gewichtsanstieg der Fette bei gering ansteigender spezifischer Aktivität und unveränderter Hemmung der Verbrennungsvorgänge. Diese Tatsache ließ sich dadurch erklären, daß es zum Einbau der sich anhäufenden Korksäure in die Fette kommt. Da die Korksäure vom Organismus schwer abgebaut wird, bliebe sie in dieser Form in der Leber für einige Zeit liegen. Der Organismus führt daher der Leber andere leicht oxydierbare Substanzen zum Teil auch Fette aus der Peripherie zu. Dem würde bei unseren Versuchsergebnissen der Gewichtsanstieg der Phosphatidfraktion bei höheren Konzentrationen entsprechen. Bei 400 mg kommt es zu einem starken Absinken der CO_2 -Ausscheidung, also zu einer noch größeren Hemmung der Verbrennungsvorgänge. Dies schlägt sich in einer verminderten C^{14}O_2 -Ausscheidung nieder.

Z u s a m m e n f a s s u n g

In Fütterungsversuchen an Tauben wurde die Stoffwechselwirkung verschiedener, physiologisch vorkommender Dicarbonsäuren untersucht.

Dabei wurden - nach oraler Applikation von C^{14} - Acetat - die Radioaktivität der Leberfette (unter Aufspaltung in acetonlösliche und acetonunlösliche Fette) und der C^{14} -Gehalt der Ausatemungsluft über 150 Minuten, sowie das Gewicht der einzelnen Fraktionen bestimmt.

Es ergab sich bei allen Dicarbonsäuren eine vermehrte C^{14} -Ausscheidung in der Ausatemungsluft, während die Gesamtmenge der abgeatmeten Kohlensäure bei Korksäure vermindert, bei Oxalsäure und Bernsteinsäure in annähernder Relation zur Fütterungsmenge vermehrt war. Im zeitlichen Ablauf der C^{14} - O_2 -Ausscheidung fand sich in keinem Fall ein charakteristischer Kurvenverlauf.

Bei der Bestimmung der Leberfette zeigte sich bei den kurzkettigen Dicarbonsäuren Oxalsäure und Bernsteinsäure eine deutliche Förderung der Fettsynthese in der Leber, insbesondere bei den Phospholipoiden; dabei lag das Optimum der Lipogenese bei verschiedenen Fütterungsmengen. Die höhermolekulare Korksäure dagegen hatte einen deutlich hemmenden Effekt auf die Fettsynthese in der Leber und führte erst bei unphysiologisch hohen Dosen zum Ansteigen des Fettspiegels.

Abschließend werden die Resorption, der Abbau und die verschiedenen Angriffspunkte der einzelnen Säuren im biochemischen Geschehen diskutiert und die Ergebnisse mit Untersuchungen anderer Autoren verglichen.

L i t e r a t u r

- 1.) A.C. Frazer, British med.J. 769, 4631 (1949)
- 2.) H.S. Paper, British med. J.769, (1949)
Tan Nabatuschi, Arch. Jap.Chir. 3, 179 (1959)
- 3.) B. Bergstrom, P. Jordan, E. Thommen,
Acta Soc. Med. Upsalin. 64, 185 (1959)
- 4.) B. Bergstrom, Acta physiol.Scand. 25, 140, 291, 315 u.f.(1952)
- 5.) Th. Stern, S. Ochoa, J. Biol.Chem. 191, 161 (1951)
- 6.) K. Bernhard, Helv. Chem.Act. 24, 1412 (1941)
- 7.) J. Kennedy, Cydidindiphosphat und die Phosphatidbiosynthese,
Springer Verlag (1961)
- 8.) K. Bernhard u.a., Zeitschr.physiol. Chem. 245, 103 (1937)
- 9.) B. Flaschenträger u.a. Helv.Chim.Acta 18 - 962 (1935)
- 10.) A. Kornberg and W. Pricer, J.Biol.Chem. 204 - 329 (1953)
- 11.) K. Lang und A.R. Bartsch, Biochem.Zeitschr. 323, 462 (1953)
- 12.) M. Calvin, D.Heidelberger E.M. Tolbert, P.E. Yankwich
Isotopic Carbon, New York: Y Wiley (1949)
- 13.) G. Entenmann, S.R.Lerner, I.L.Chaikoff, W.G.Dauben
Proc.Soc.Exper.Biol.a.Med.Vol 70, 364 (1949)
- 14.) Labhart, Praxis (Bern) 48,410 (1959)
- 15.) V.v.Brand u.E. Helmreich, Bioch.Ztschr. 328, 146 (1956)
- 16.) L.W. Bruce and F.B. Schorland, Nature 167, 236 (1951)
- 17.) E.Klenk, Ztschr. physiol. Chem. 302, 268 (1955)
- 18.) D.L. Edwards, Arch. of Path. 64, 546 (1957)
- 19.) Acker, Dormer, Scoven und B.Watts, Clinical Science
16, 405,(1957)
- 20.) B. Flaschenträger und P.B. Müller, Ztschr.Physiol.Chem.
251, 52 (1938), P.B. Müller, Ztschr. Physiol. Chem. 266,
149 (1940)
- 21.) S. Weinhouse und B. Friedmann, J.Biol.Chem.191, 707 (1951)
- 22.) J. Burns, Amer. J.Med. 26, 740 (1959)
- 23.) B. Elder und J.B. Wyngarden,
J. of Clinical Investigation, 39, 1337 (1960)
- 24.) J.C. Crawhall u.a., Lancet 2, 810 (1959)
- 25.) Longo Ztschr. Physiol.Chem. 1, 213 (1877)
- 26.) H.A. Krebs, Ann, Rev.Biochem. 19, 417 (1950)
- 27.) Weitzel, Ztschr. Physiol.Chem. 282, 174 (1947)

- 28.) B. Flaschenträger u.T. Hosoda
Ztschr. Physiol.Chem. 282, 215 (1947)
- 29.) Th. Stern u.a., J.American Chem. Soc. 75, 1517 (1953)
- 30.) K.I. Mathes, S.Abraham und J.L. Chaikoff, J.Biol.Chem.
235, 2560 (1960)
- 31.) P.E. Verkade, J.van der Lee u. H. van Alpen,
Ztschr. Physiol. Chem. 250, 47 (1937)
- 32.) B. Flaschenträger und K. Bernhard
Ztschr. Physiol. Chem. 238, 221 (1936)
- 33.) H.G. Smith, J.Biol.Chem. 103, 531 (1933)
- 34.) Schönheimer, J.Biol.Chem. 111, 175 (1935)
- 35.) Mündliche Mitteilungen von cand.med. G.Göde
- 36.) B.Flaschenträger und F. Lehnartz, Physiol.Chemie, Springer,
Berlin, Göttingen, Heidelberg (1951-1956)

L E E N S L A U F
=====

Am 6.12.1938 wurde ich als viertes Kind des praktischen Arztes Dr. Karl Konietzko und seiner Gemahlin Hildegard, geb. Tenschert, in Kieferstädtel, Krs. Gleiwitz, Oberschlesien, geboren. Dort besuchte ich ein viertel Jahr lang die Volksschule. Nach der Vertreibung aus der Heimat kam ich an die Volksschule in Pilsach, Krs. Neumarkt / Opf., und im Anschluß daran an das Humanistische Gymnasium in Neumarkt / Opf., wo ich im Sommer 1957 die Reifeprüfung ablegte. Im Wintersemester 1957 begann ich an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München mein Studium. Hier legte ich im Frühjahr 1959 die Naturwissenschaftliche Vorprüfung und im Frühjahr 1960 die Ärztliche Vorprüfung ab. Am 3. März 1963 trat ich in die Prüfungen zum Medizinischen Staatsexamen ein.

" Zum Schluß der Arbeit möchte ich nicht versäumen, Herrn Prof. Dr. W. Seitz und Frau Dr. Nagengast meinen Dank auszusprechen. Sie haben nicht nur die Arbeit ermöglicht, sondern darüber hinaus durch persönlichen Einsatz und durch Ratschlag zu ihrer Entstehung und ihrer endgültigen Form in wesentlichen Punkten beigetragen. "

